

FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1970

THÈSE

N°

66

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Suzanne ROBERT

Née le 20 Janvier 1945 à Oran (Algérie)

Présentée et soutenue publiquement le

DIAGNOSTIC D'UNE CARENCE
EN ACIDE FOLIQUE

Président : Monsieur J. BOUSSER (Professeur)

DACTYLO - SORBONNE

8, Rue Casimir-Delavigne
PARIS-VI*

1969

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

-:-

Année 1970

N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Suzanne ROBERT

Née le 20 janvier 1945 à Oran (Algérie)

-:-

Présentée et soutenue publiquement
le

-:-

DIAGNOSTIC D'UNE CARENCE EN ACIDE FOLIQUE

-:-

Président : Monsieur J. BOUSSER (Professeur)

-:-

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS - 6ème
1969



A mes PARENTS

En témoignage de mon affection
et de ma reconnaissance

A ma soeur MICHELE

A ma GRAND-MERE

A toute ma FAMILLE

A tous mes AMIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A notre maître et Président de thèse

Monsieur le Professeur Jacques BOUSSER

Professeur à titre personnel (Hématologie)

Chevalier de la Légion d'honneur

Grâce à votre service,
notre stage de Première
Année de Médecine a été
un des plus profitables

Vous nous avez fait le
très grand honneur d'ac-
cepter la présidence de
notre jury de thèse

Qu'il nous soit permis de
vous en exprimer notre
hommage respectueux et
reconnaissant

A Monsieur le Docteur Pierre d'AUTEUIL

Chef du Service d'Hématologie à l'Hôtel-Dieu
de Québec (Canada)

Vous nous avez fait l'honneur
de nous confier ce travail

Qu'il nous soit permis de vous
remercier de l'attention
bienveillante que vous nous
avez manifestée

A Monsieur le Professeur R. COUJARD

Professeur d'Histologie-Embryologie
à la Faculté de Médecine de Paris

Vous nous avez toujours
témoigné une grande
sollicitude

Vous nous avez fait profiter
de votre expérience scientifique

Veillez trouver ici l'expression
de notre profonde
gratitude

Au Docteur GUILAINE

Médecin-Assistant des Hôpitaux

Vous nous avez accueillie
avec bienveillance au
sein de votre service

Qu'il nous soit permis de
vous assurer de notre
reconnaissance respec-
tueuse

A tous mes maîtres des Hôpitaux

A notre Jury de Thèse

DIAGNOSTIC
D'UNE CARENCE EN ACIDE FOLIQUE

-:-

HISTORIQUE

-:-

Dès 1931, Lucy WILLS décrivit une anémie survenant chez les femmes enceintes. Dans cette affection, l'image sanguine ressemblait à celle de l'anémie pernicieuse et on obtenait des réponses hématologiques satisfaisantes après l'administration d'extrait concentré de levure autolysée.

Expérimentalement, Lucy WILLS et ses collaborateurs provoquèrent chez les Singes une anémie macrocytaire avec leucopénie en les soumettant à un régime spécial. Les animaux ainsi traités, présentaient une réponse hématologique à la prise d'extraits de levure ou de foie, mais pas aux extraits purifiés effectifs dans le traitement de l'anémie pernicieuse.

En 1935, DAY réalisa une autre série d'investigations. Il soumettait des Singes à une diète contenant du riz poli, de la caséine purifiée, de l'huile de foie de morue, un mélange salé et de l'orange. Les animaux développèrent une "cytopénie nutritionnelle" marquée par une anémie, une leucopénie, des ulcérations des muqueuses, une diarrhée avec sensibilité à la dysenterie bacillaire et à diverses infections. Il nomma le facteur nécessaire à la prévention de la "cytopénie nutritionnelle" Vitamine M.

Dans la même optique, STOCKSAD et MANNING découvrirent une Vitamine non identifiée "facteur U", nécessaire à la croissance des Poulets.

HOGAN et PARROT mirent en évidence une anémie macrocytaire chez ces Poulets et appelèrent Vitamine Bc le facteur manquant. Mais, en 1940, SNELL et PETERSON appliquèrent le nom de "facteur élué" présent dans la levure à un facteur vitaminique nécessaire à la croissance du *Lactobacillus Casei*, sur un milieu de culture purifié. SNELL et WILLIAMS en 1941 rebaptisèrent ce facteur "Acide Folique" et définirent les termes de son activité pour le streptocoque fécalis. Il est aujourd'hui démontré que le principe de Lucy WILLS, la Vitamine M, la Vitamine Bc sont différentes expressions plus ou moins pures de l'Acide Folique.

Les investigations ultérieures conduisirent à l'isolement, la dégradation, puis à la synthèse de l'acide ptéroylglutamique selon sa formule chimique.

En 1942, on obtint un Acide Folique concentré préparé à partir d'un autolysat de levure. Une injection intramusculaire de 4 ou 4,5 mg d'une préparation d'acide ptéroyltriglutamique pendant quelques jours entraînait une rémission rapide et complète avec correction des granulocytes. La réponse à l'acide ptéroyltriglutamique était supérieure à celle vue dans l'anémie pernicieuse lors d'une thérapeutique adéquate.

L'association d'une "cytopénie nutritionnelle" avec une carence en Acide ptéroyltriglutamique est universelle dans toutes les espèces d'animaux chez qui on a provoqué ce déficit.

Les Souris, les Dindes, les Renards, les Porcs, les Chiens développèrent tous une anémie, une leucopénie, accompagnés de changements hypoplasiques de la moelle.

Chez certaines espèces, on créa expérimentalement une carence par l'administration d'un antagoniste synthétique de l'Acide Folique.

Plus que toute autre vitamine, l'acide ptéroylglutamique et ses composés chimiques entrent dans la formation des cellules sanguines.

I - METABOLISME DE L'ACIDE FOLIQUE

Le groupe de l'acide folique résulte de l'association de ptéridine, d'acide paraaminobenzoïque et d'acide glutamique.

Des composés sont chimiquement apparentés, ce sont : les ptéroylglutamates qui ne diffèrent que par le nombre de résidus d'acide glutamique attachés au complexe Ptéridine-PAB

La substance antérieurement désignée sous forme de facteur de fermentation présent dans la levure est une heptaglutamate.

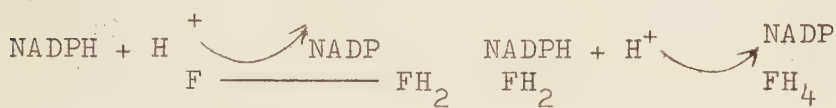
On en rapproche un autre composé l'acide N₅ formyl THFA ou acide folinique issu de l'Acide Folique et transformé dans le foie. Cette forme est présente dans les extraits de foie et nécessaire à la croissance d'un lactobacille:

Leuconostoc Citrovorum

(voir formule page suivante)

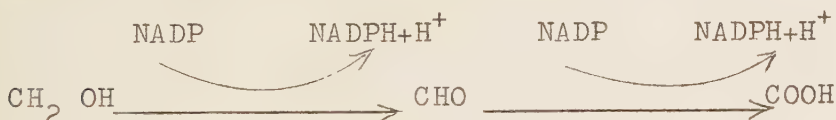
Rôle physiologique

Les coenzymes de l'Acide Folique régissent spécialement et spécifiquement les réactions biochimiques, impliquant le transfert et l'utilisation de la fraction monocarbonée. Avant de jouer son rôle de transporteur de C_1 , il est réduit en acide dihydrofolique FH_2 , puis en composé tétrahydrofolique FH_4 , le tout étant catalysé par un acide folique réductase, utilisant le NADPH comme donneur d'hydrogène.



Les antagonistes de l'acide Folique sont des inhibiteurs extrêmement puissants de cette réaction.

La fraction monocarbonée peut être le formyle CHO , le formate ($\text{H}-\text{COOH}$) ou l'hydroxyméthyle ($\text{CH}_2 \text{ OH}$). Ces composés sont métaboliquement interchangeables dans une réaction catalysée par une hydroxyméthyle déshydrogénase en présence de NADP.



Tel que noté plus haut, l'acide folinique est un acide N_5 formyl tétrahydrofolique ou sous forme abrégée $f_5\text{-FH}_4$. Ce composé est métaboliquement inerte, sauf pour la formylation de l'acide glutamique au cours de la dégradation métabolique de l'Histidine. Tandis que les

dérivés $F_{10} - FH_4$ dans lesquels le monocarbone est lié entre les positions 5 et 10 sur l'acide tétrahydrofolique sont des formes actives.

UTILISATION DE LA FRACTION MONOCARBONÉE

1°- peut fournir les carbones 2 et 8 dans le noyau purique.

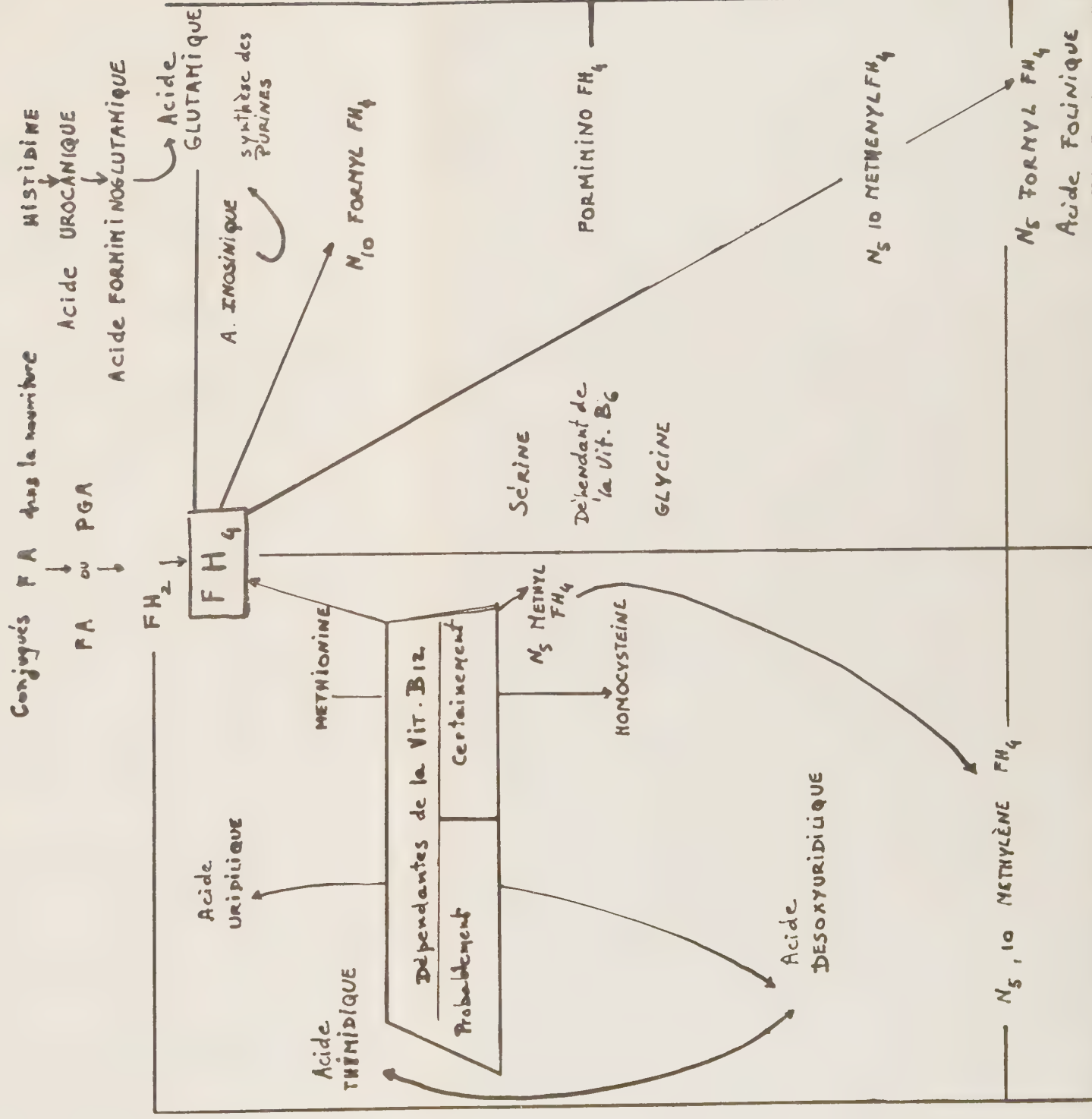
2°- L'atome C du Groupement formyl $F_{10} - FH_4$ peut contribuer à la formation du carbone de la sérine dans la conversion glycine-sérine.

3°- Peut participer à la synthèse des groupements méthyl qui serviront ensuite à la méthylation de l'uracile, pour former la thymine, à la synthèse de la choline par l'intermédiaire des groupements méthyl de la méthionine. La participation des coenzymes de l'Acide Folique dans les réactions conduisant à la synthèse des purines souligne le rôle fondamental de l'Acide Folique dans la croissance et la reproduction des cellules.

INTERRELATIONS entre les DIFFERENTS FOLATES, LA VITAMINE B12

et la VITAMINE B6

D'après "Drugs effective in Megaloblastic Anemias"
by HERBERT - 1965 -



II - DIAGNOSTIC CLINIQUE

C'est en général un patient souffrant d'anémie et qui présentera donc les signes fonctionnels suivants : asthénie, anorexie.
suivant l'intensité de l'anémie : dyspnée, oedème des membres inférieurs ..

L'examen du patient montre :

- une pâleur cireuse
- une atrophie des muqueuses, langue dépapillée
- des saignements (épistaxis)
- rarement une splénomégalie et même à ce propos Mc CARTHY, FRASER, EVANS et READ signalent dans certains cas de stéatorrhée idiopathique une atrophie de la rate. Ces patients étaient porteurs de taux d'Acide Folique très abaissés. Les auteurs pensent que l'Acide Folique aurait une action sur le système réticulo endothélial. Ils s'appuient sur les arguments suivants :

I - Dans les anémies mégaloblastique répondant au traitement par l'Acide Folique, on observe très souvent une atrophie de la rate.

2 - Les expériences d'ASENJO en 1948 prouvent que si l'on provoque une carence en Acide Folique nutritionnelle chez des animaux il s'en suit une atrophie de la rate.

3 - Leurs propres expériences indiquent que : dans les cas d'atrophie lymphoréticulaire, il existe :

- un déficit en Acide Folique
- un taux augmenté de l'excrétion du FIGLU
- des corps de HOWELL-JOLLY.

Ils pensent que le mécanisme de l'atrophie splénique est probablement un ralentissement de la synthèse des nucléoprotéines.

En ce qui concerne les signes neurologiques, certains auteurs affirment, catégoriquement, l'absence de signes neurologiques dans les déficits en Acide Folique et en font même un diagnostic différentiel avec la carence en Vitamine B₁₂ (WINTHROBE). Par contre, GRANT,

HOFFBRAND et WELLS rapportent une étude faite à l'Hôpital West End de Londres. Ils affirment que sept patients ayant une carence en Acide Folique, prouvée par le tableau hématologique et biochimique (taux normal de Vitamine B₁₂)

présentaient des signes neurologiques. Quatre patients étaient porteurs d'une paraplégie spastique, trois autres d'une neuropathie périphérique. On peut admettre qu'il s'agit d'une coïncidence, mais au bout de quelques jours de thérapeutique par l'Acide Folique, on constatait une amélioration des signes subjectifs et objectifs. On a rapporté également des cas de démence dûs à un déficit continu et chronique chez des femmes se nourrissant fort peu (thé - gruau). Les patients recouvrèrent après thérapeutique à l'acide folique.

En outre, le tableau clinique est étayé par les signes étiologiques de la carence en Acide Folique : stéatorrhée, cirrhose, grossesse.

III - DIAGNOSTIC HEMATOLOGIQUE

Le signe le plus précoce d'une carence en Acide Folique chez l'homme est l'augmentation de segmentation des noyaux leucocytaires.

Il s'agit rarement d'une anomalie importante telle que la formation de polynucléaires à 8 lobes ou plus, mais d'une augmentation globale de l'indice de segmentation. Au lieu du taux normal : 15 à 25 p.cent de polynucléaires neutrophiles à 4 lobes, 50 p.cent présentent 4 lobes ou plus. C'est un indice très important.

Plus tard, on observe souvent, une anémie macrocytaire, une leucopénie avec une formule d'Arneth déviée vers la droite (l'indice de segmentation est supérieur à 2,5). Souvent, une thrombopénie qui peut être isolée.

Le myélogramme obtenu par ponction sternale ou de la crête iliaque peut objectiver une mégaloblastose ou une prémégaloblastose. Laurence KUSS décrit même dans le cas de carence en acide folique une image spéciale de chromatine. La chromatine est répartie le long de la membrane nucléaire des mégaloblastes. Elle est rangée le long de la paroi formant des points qui évoquent une image d'horloge. Au microscope électronique ces nucléohistones apparaissent comme un enchevêtrement de fibrilles. D'autre part, on observe des métamyélocytes géants. Quelquefois, le tableau est moins précis et on a une image de prémégaloblastose seulement.

Le Professeur BERNARD signale :

"Les mégalo blasts, les macrocytes, les métamyclo cytes jeunes et géants, les polynucléaires multise gmentés et même la thrombopénie de l'anémie pernici euse peuvent être expliqués par le rôle que la Vitamine B 12 et l'Acide Folique jouent dans la synthèse du DNA. Dans ce cas, bien des cellules sont incapables de se diviser pour former de nouvelles cellules comme habituellement. Par conséquent, la taille des cellules augmente".

Cette action de l'Acide Folique sur l'hématopoïèse a été prouvée d'une manière directe par TASKER.

Il installa une aiguille de biopsie dans la crête iliaque de patients souffrant d'anémie mégalo blastique sévère nutritionnelle ou due à la grossesse. Après une première biopsie, il instilla 0,50 mg d'Acide Folinique par son aiguille et refit, 48 heures après, une deuxième biopsie, ainsi qu'une biopsie de la crête iliaque opposée pour témoin.

Sur dix malades, chez six il observait une transformation significative, chez deux patients un retour à une moelle normoblastique.

On peut dire que l'Acide Folinique a une action directe sur la mégalo blastose contrairement à l'Acide Folique qui nécessite une transformation métabolique avant d'être capable de convertir les mégalo blasts en normoblastes.

IV - DIAGNOSTIC BIOCHIMIQUE D'UN DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE

La présence de macrocytes et de polynucléaires neutrophiles hypersegmentés dans les frottis de sang périphérique et la présence de métamyelocytes géants dans les frottis de moelle permettent de songer au diagnostic de carence en Acide Folique. Cependant les tests microbiologiques et biochimiques, même s'ils ne sont pas toujours des critères formels (CHANARIN 1964) en sont néanmoins des tests détectant souvent un déficit en Acide Folique latent, avant toute manifestation clinique ou hématologique. De plus, ces tests ont une valeur de compréhension de la pathogénie de ces processus mégalo-blastiques.

Certains tests utilisés dans le diagnostic d'anémie pernicieuse peuvent être utiles.

I°- Evaluation de taux sérique de Vitamine B12

Il est estimé à l'aide d'une méthode microbiologique utilisant le microorganisme *Euglena Gracilis*.

Le taux normal est compris entre 140 $\mu\mu$ g/ml et 900 $\mu\mu$ g/ml. Devant un taux normal de Vitamine B12 sérique, on cherchera une autre cause à l'anémie mégalo-blastique et c'est un argument de plus pour le diagnostic de carence en Acide Folique.

Cependant, un taux sérique de Vitamine B12 abaissé n'élimine pas forcément un déficit en

Acide Folique. Les deux carences peuvent co-exister.

2°- Test de Shilling ou test d'absorption de la Vitamine B12 marquée au ^{56}Co .

Un test de Schilling normal (plus de 7 p.cent de la dose ingérée, 1000 γ de Vitamine B12, retrouvés dans les urines) élimine une mauvaise absorption de la Vitamine B12.

Si le test de Schilling est anormal, on recommencera ce test avec le facteur intrinsèque gastrique. En cas d'anémie de Biermer, l'excrétion urinaire de Vitamine B12 marquée dans les urines se normalise.

S'il n'y a pas de correction, il peut s'agir d'une malabsorption intestinale et dans ce cas, on peut observer un déficit combiné en Vitamine B12 et Acide folique.

3°- Dosage des enzymes sériques lactico-deshydrogénase et Hydroxybutyrique deshydrogénasé (1)

Une élévation de ces enzymes qui peut atteindre soixante fois le taux normal se produit dans les anémies mégaloblastiques. On a expliqué ce mécanisme par l'érythropoïèse inefficace.

Après la thérapeutique, les enzymes sériques LDH et HBD diminuent tandis que la réticulocytose augmente.

Les méthodes propres à l'investigation du déficit en acide folique les plus couramment employées sont au nombre de trois :

- (1) Mechanism of serum lactate deshydrogenase elevation in megaloblastic anemia (STEIN - KOCHWA - ZALUSKY - BLOOD - 1960, page 875).

- Evaluation de taux du sérum en folates
- Dosage de l'acide formiminoglutamique dans les urines
- Clearance de l'acide folique.

A ces méthodes fondamentales s'ajoutent :

- le dosage de l'acide folique dans le sang total
- le dosage de l'acide orocanique dans les urines
- l'absorption de l'acide folique
- l'excrétion urinaire et fécale de la radio-activité après doses orales d'acide folique tritié.

A - EVALUATION du TAUX DE SERUM en FOLATES

Le principe du dosage est de titrer l'activité du sérum pour un micro-organisme nécessitant la présence d'acide folique pour croître.

Les premières méthodes de dosage de l'acide folique sanguin et sérique ont été tentées avec le streptocoque fécalis (SCHWEIGERT - PEARSON - SIMPSON 1949).

Les résultats ne concordaient pas avec l'expérience clinique. SCHWEIGERT en 1948 puis SPRAY en 1952 utilisèrent le Lactobacillus Casei. Mais ces auteurs ne purent démontrer des différences significatives dans les taux d'acide folique sanguin et sérique chez des patients souffrant de carence en vitamine B12, en Acide Folique et chez les patients normaux.

Vers la fin de l'année 1950, TOENNIES et ses collaborateurs prouvèrent qu'il existe dans les éléments sanguins et le sérum un facteur labile à la chaleur qui stimule la croissance de L Casei et non la croissance de S fécalis. Ce facteur incluant 95 p.cent de l'activité totale pour L Casei peut être préservé de la des-

truction calorique par l'acide ascorbique.

Puis, certaines expériences furent significatives :

- Le facteur labile décroît rapidement chez les Rats soumis à une diète carencée en Acide Folique (TOENNIES et coll. 1956).

- Chez les humains, l'activité sérique L Casei est basse, chez des patients atteints de sprue et d'anémie répondant à l'administration d'acide folique (HANSEN 1959).

- L'administration d'acide folique élève l'activité L Casei.

Ultérieurement HERBERT, LARABEE, BUCHANAN en 1962 déterminèrent que le facteur labile permettant la croissance de L Casei est un monoglutamate : Acide N₅ Méthyltétrahydrofolique.

En 1963, WATERS et MOLLIN établirent une méthode dérivée de celle de HERBERT.

- MATERIEL -

I°- Milieu de base

On emploie un hydrolysate de caséine enzymatique non vitaminé de préférence à la caséine hydrolysée parce que cette préparation donne un précipité à l'autoclave.

pH = 6,6 à 6,8 -

Hydrolysate de caséine enzymatique	200 mg
Sulfate d'adénine	10 mg
Hydrochloride guanine	10 mg
Uracil	10 mg
Xanthine	20 mg
Monohydrate de 'Asparagine	600 mg
Hydrochloride de la Cystéine	500 mg
Riboflavine	1 mg
Acide paraaminobenzoïque	2 mg
Hydrochloride de Pyridoxine	4 mg
Hydrochloride de thiamine	0,4 mg
Pantothémate de calcium	0,8 mg
Acide nicotinique	0,8 mg
Biotine	0,02mg
Dextrose	40 mg
Glutathion réduit	5 mg
Solution salée	10 mg
Acétate de sodium	40 mg
K ₂ H PO ₄	2 mg
MN SO ₄ H ₂ O	200 mg

2°- Microorganisme

L'organisme utilisé est le *Lactobacillus casei*. Il est maintenu dans un disque de gélatine sec et emmagasiné dans un dessiccateur à la température de la pièce.

3°- Préparation de l'inoculum

On utilise un disque de gélatine contenant le microorganisme. On incube à 37°C pendant 30 heures. La suspension bactérienne est centrifugée, le surnageant décanté et les cellules bactériennes lavées dans 20 ml du milieu basal.

Les cellules sont suspendues dans 20 ml du milieu basal pour produire une densité optique standard.

On dépose une goutte de l'inoculat dans chaque

tube à essai à l'aide d'une pipette Pasteur (50 gouttes/ml).

4°- Collection des échantillons sériques

- Sang veineux collecté au moins deux heures après un repas
- L'échantillon peut rester à température de la pièce pendant 2 heures.

Prévenir l'hémolyse qui augmente 10 fois le taux d'acide Folique.

- Le sérum est stocké à -20°C .

5°- Préparation d'une solution d'Acide Folique standard

Préparation d'acide ptéroylglutamique purifié et cristallisé.

6°- Verrerie

Les flacons volumétriques et les pipettes sont nettoyés dans de l'acide sulfurique, rincés à l'eau du robinet puis dans de l'eau distillée pour éviter la contamination d'acide folique exogène.

7°- Préparation du sérum

Les sérums sont dilués avec le tampon monophosphaté pour donner le substrat optimum à l'activité folique pour L Casei.

Des concentrations valables d'acide ascorbique ont été utilisées dans le tampon phosphaté (concentration optima 100 mg. p.cent).

La solution sérum -tampon au 1/10 est autoclavée à 15 p.s.i. pendant 2 minutes et demie afin de coaguler les protéines sériques. Le surnageant clair est dilué au 1/4 avec de l'eau déionisée, ce qui donne une dilution au 1/40 par rapport au sérum original.

Méthode -

Le dosage est effectué pour un volume total de 4 ml/tube. Le volume est sélectionné car le

sérum est dilué au 1/40 et seulement 0,5 ml de sérum sont requis pour chaque dosage.

On introduit 2 ml de la solution sérique au 1/40 dans 4 tubes de pyrex et 2 ml du milieu basal. On obtient par conséquent une dilution au 1/80.

Les tubes sont fermés par des capuchons en aluminium et autoclavés à 10 p.s.i. pendant 10 minutes, ce qui permet une stérilisation effective.

Après refroidissement 1 des 4 tubes de chaque specimen de sérum est mis de côté. Les 3 autres subissent l'inoculation avec 1 goutte de L Casei.

Le bain d'essai est incubé à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ pendant 18 heures.

Courbe standard -

Une courbe standard est déterminée.

Des tubes contiennent 0,0 - 0,1 - 0,2 - 0,4 0,6 - 0,8 - 1 - 1,2 - 1,4 m g d'acide folique.

Ces tubes sont répétés en trois exemplaires.

Sur les trois :

1 contient de l'acide folique et est inoculé.
1 ne contient pas d'acide folique et est inoculé.

1 contient de l'acide folique et n'est pas inoculé.

Lecture -

La croissance est déterminée par la mesure de la turbidité dans un colorimètre photoélectrique UNICAM, utilisant un filtre ILFORD 625 $\lambda = 510$ à $590 \text{ m}\mu$), et est transcrite en unités de densité optique : OD x 1000. Chaque échantillon de sérum est lu en regard de l'échantillon mis de côté, utilisé comme base 0

du colorimètre.

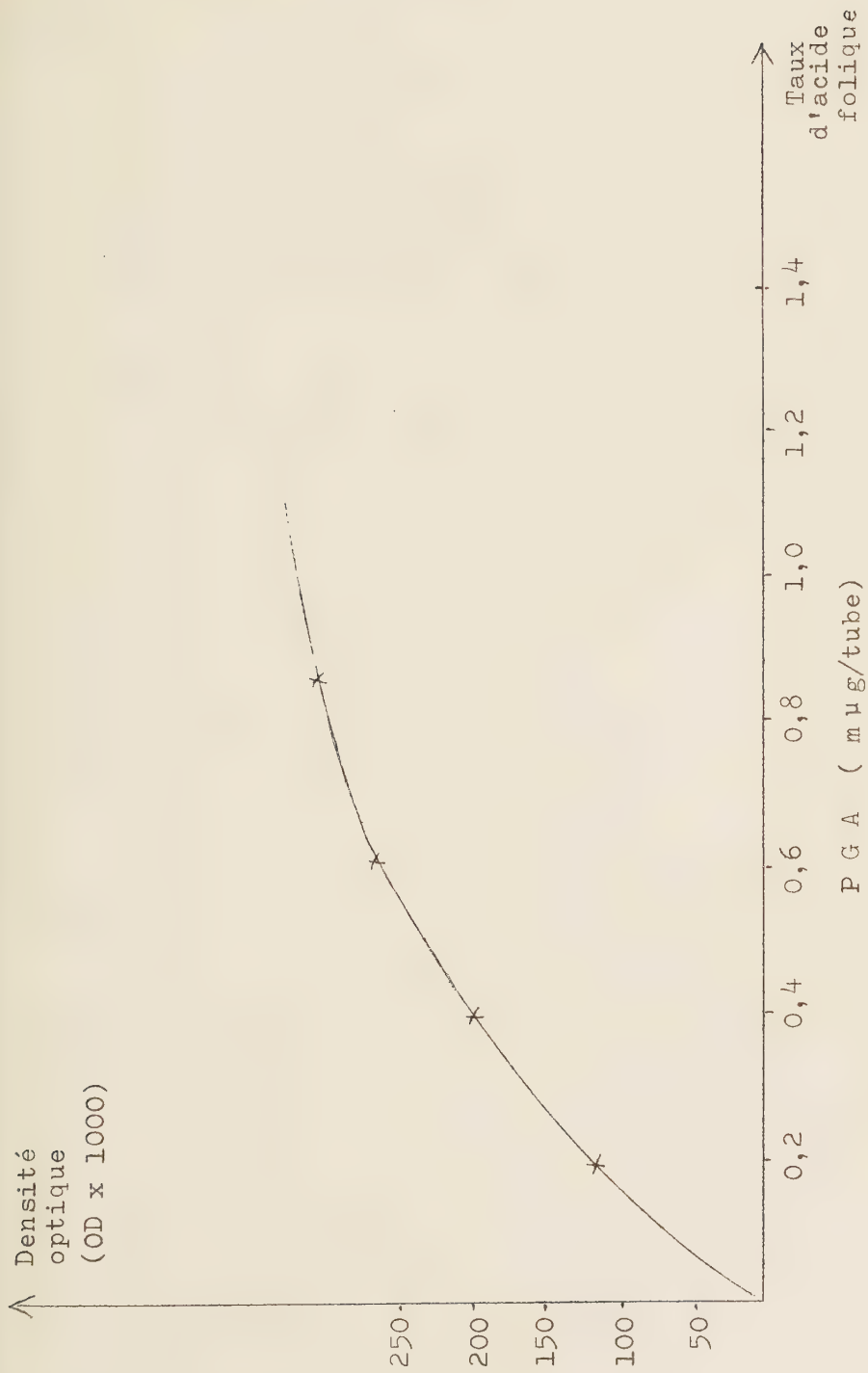
Ce procédé élimine les effets colorimétriques du milieu de base. Les densités optiques, témoins de la croissance microbienne des tubes, contenant une quantité d'acide folique connue, sont inscrites sur papier graphique en ordonnées et le montant d'acide folique correspondant est indiqué en abscisses.

Le taux le plus sensible de la courbe se situe entre 0,1 et 1 m g par tube, ce qui correspond à une activité folique de 2, 0 m g/ml à 20, 0 m g/ml. Si l'activité folique est plus basse que 2, 0 m g/ml ou plus haute que 20,0 m g/ml, le spécimen est redosé à plus basse ou plus haute dilution pour donner des lectures plus sensibles.

Le dosage de l'acide folique sérique est considéré comme un moyen de diagnostic des plus sûrs, pour établir un déficit en acide folique.

En même temps qu'on recherchait à doser l'acide folique du sérum, on a évalué l'acide folique du sang total. Les taux sont beaucoup plus élevés que dans le sérum (30 à 40 fois plus importants). Certains auteurs américains considèrent que l'Acide N 5 méthyl tétrahydrofolique, présent dans le sang total surpasse l'activité de croissance du L Casei et rend le dosage imprécis, ce qui explique les différences observées entre les résultats dûs au dosage sérique et ceux dûs au dosage dans le sang total.

Dans les déficits en Vitamine B12 il semble que les globules rouges soient incapables d'incorporer les folates, ce qui conduit à des taux bas d'acide folique dans les globules rouges et à une accumulation de folates dans le sérum. De même, chez les sujets transfusés, le taux des folates sériques est le plus sûr car la

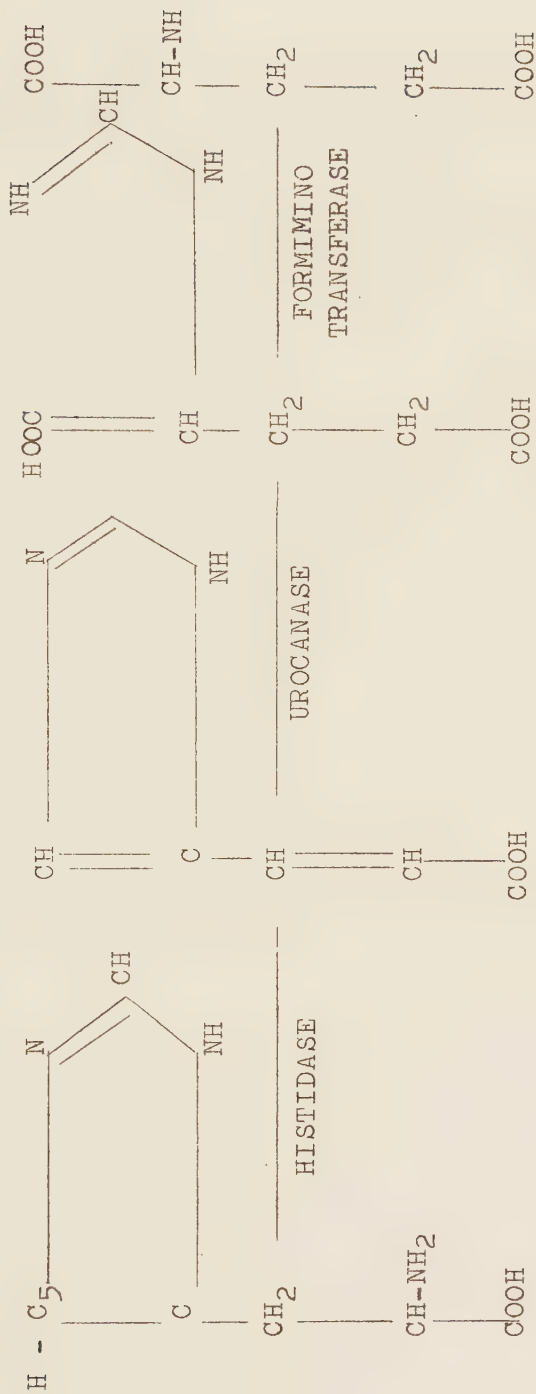


transmission d'acide folique dans le sérum est très faible.

Dans les infections avec anémie, il n'est pas rare de trouver un taux d'acide folique normal dans le sang et diminué dans le sérum. Ainsi ces différents exemples montrent qu'il vaut mieux se fier au taux d'acide folique sérique.

B - EXCRETION URINAIRE DE L'ACIDE FORMIMINO-
GLUTAMIQUE

EXCRETION URINAIRE DE L'ACIDE FORMIMINOGLUTAMIQUE



Le groupe formimino ($\text{CH} = \text{NH}$) est repris par le coenzyme ; l'acide folique et, en son absence, l'acide formiminoglutamique s'accumule et est excrété dans l'urine.

La découverte en 1955, du fait que les Rats déficients en acide folique excrétaient dans leur urine un précurseur glutamique isolé et identifié comme le FIGLU a conduit au test d'excrétion du FIGLU comme test de déficience en folates.

Cependant, ce test n'est pas spécifique car le FIGLU est métabolisé dans le foie, et lors de désordres hépatiques on peut trouver un taux de FIGLU urinaire élevé, bien qu'il n'y ait pas de déficit en acide folique. D'autre part, lors des anémies mégaloblastiques de la grossesse, le test au Figlu n'est pas un bon test car il est souvent négatif. Pour HANSEN, la raison de cette négativation n'est pas bien claire. Par contre, on a déclaré qu'il s'agirait d'une perte en Histidine pendant la grossesse en raison d'un seuil rénal abaissé et d'une utilisation de l'Histidine pour la synthèse protéique. Mais, à l'opposé, dans les anémies induites par les antifoliques, on retrouve un taux de FIGLU dans les urines élevé et quelquefois l'excrétion urinaire élevée précède l'anémie.

Le montant du FIGLU dans l'urine est déterminé par diverses méthodes. Ce furent d'abord les méthodes microbiologiques qui furent décrites, cependant elles sont moins sensibles que les méthodes enzymatiques. TABOR et WEINGARDEN ont décrit en 1958 une méthode enzymatique sensible et spécifique, faisant appel à un extrait de foie contenant une FIGLU transférase. Cet enzyme catalyse le transfert du groupement formimino au FH_4 , ce dernier étant mesuré spectrophotométriquement par l'intermédiaire de son dérivé, le 5-10 méthényle dérivé.

Cette méthode identifie 0,1 $\mu\text{g/ml}$ d'urine de FIGLU. Cependant l'enzyme est difficile à préparer et l'estimation prend 5 ou 6 jours. Il existe aussi des méthodes de mesure électrophorétiques à haut voltage, adaptées à la détermination quantitative du FIGLU.

I - ELECTROPHORESE à HAUT VOLTAGE

Matériel : On prépare une substance FIGLU standard.

Principe : 25 μl d'urine sont imbibés sur papier filtre (WHATMAN n°3M) et électrophorisés à 60 KV et 60 à 80 ampères, pendant 20 minutes dans les conditions suivantes :

- le tampon est un acétate de pyridine à pH: 4
- aux urines a été ajoutée une quantité connue de FIGLU standard.

Après séparation, les taches de FIGLU sont repérées de deux manières :

1) le papier est plongé dans un réactif au Nitroprussiate de ferricyanide ce qui donne une réaction orangée avec le FIGLU.

2) Un papier par échantillon est exposé à une vapeur ammoniacuée, en le suspendant dans un bac, contenant de l'ammoniaque concentrée, ce qui convertit le FIGLU en acide glutamique.

Les bandes de papier sont ensuite asséchées à 110° pendant 10 minutes, puis plongées dans l'acétone et l'acide acétique, pour neutraliser l'excès d'ammoniaque, enfin de nouveau asséchées à 110° pendant 30 secondes. Ensuite, les papiers ammoniacués et non ammoniacués sont soumis à la ninhydrine avec sulfate de nickel vingt-quatre heures plus tard. Une tache apparaît sur le papier traité à l'ammoniaque et qui correspond au composé standard de FIGLU. Il n'y a pas de tache sur le papier soumis à la ninhydrine seule.

Il suffit ensuite de comparer les papiers :

1°- Tache de FIGLU obtenue après électrophorèse, d'une urine contenant une quantité de FIGLU connue.

2°- Tache de FIGLU obtenue après électrophorèse d'une urine contenant une quantité de FIGLU inconnue et, recueillie dans les huit heures après l'ingestion de 15 grammes d'Histidine.

L'intensité de la tache colorimétrique est mesurée à l'aide d'un spectromètre.

Résultats

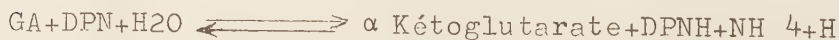
Cette méthode permet de mesurer une quantité de FIGLU de 10 $\mu\text{g/ml}$. Sans surcharge en Histidine et même en cas de déficit en acide folique, on ne retrouve pas de FIGLU dans les urines ou très peu. Normalement, après surcharge de 15 g d'Histidine une personne excrète entre 10 et 30 μg par ml d'urine. S'il existe un déficit en acide folique, l'excrétion de FIGLU dépasse 1000 mg par jour.

II - METHODES ENZYMATIQUES

Mrs MEISS, Donald PEYSER et Aaron MILLER ont décrit une méthode enzymatique en 1964.

A - Principe

Une portion de l'échantillon à doser est traitée pour faire disparaître les substances interférentes et, ensuite soumises à l'hydrolyse alcaline afin de transformer le FIGLU en acide glutamique (G A). Ce dernier est ajouté à une solution contenant de l'acide glutamique deshydrogénase et un excès de DPN. La réaction se lit comme suit :



Le taux de DPNH, provenant de l'équilibre est déterminé spectrophotométriquement, et par comparaison avec une courbe de référence, on détermine la concentration en GA. Une autre portion est traitée mais non hydrolysée. La différence entre les deux taux d'acide glutamique est égale à la concentration en Figlu.

B - Matériel

I) Solutions tampons

3 et 6 Moles de NaOH, 0,3 mole de NaCl, 0,5 mole d'hydroxylaminométhane, pH : 8,1 et 0,2 mole Na_2HPO_4 à pH : 7,6 et 8,0.

2) Charbon activité (Norite)

1 litre de HCl à 10 p.cent ajouté à 200 g de charbon.

Le mélange est porté à l'ébullition, refroidi, puis filtré ; le charbon est lavé avec de l'eau, filtré puis séché à 105°C.

3) D P N

Une solution de DPN (concentration 4 g /ml) avec 0,5 mole d'hydroxyméthylaminométhane à pH : 8,1 est établie pour tester l'acide glutamique.

4) Acide glutamique deshydrogénase (libre d'ammonium)

Cette enzyme est obtenue par dissolution dans le glycérol. Une solution de réserve est préparée. On dilue l'enzyme à une concentration de 30 mg par 100 ml dans 0,2 mole de Na_2HPO_4 à pH 7,6. La solution reste stable au moins 6 mois, si elle est emmagasinée à 4°C.

5) Acide glutamique

Substance standard.

6) FIGLU (substance standard)

Obtenu à partir d'une substance cristallisée, vendue dans le commerce, contenant 50 p.cent de FIGLU et 10 p.cent de GA (On les sépare par chromatographie).

C - COLLECTION DES ECHANTILLONS

a) L'urine humaine collectée dans un récipient contenant 2 ml de Toluène et 8 ml d'acide acétique comprend une quantité d'urine recueillie dans une période de 8 heures après ingestion de 15 g d'Histidine.

b) Préparation des échantillons

5 ml d'urine sont ajoutés à un tube test, contenant 0,1 ml de tampon phosphate (pH : 8) et 6 ml d'eau. De grands volumes d'urine peuvent être utilisés mais la quantité d'eau ajoutée sera réduite. On maintient le volume à 11,1 ml.

On plonge ces échantillons dans l'eau glacée. On ajoute au mélange quelques gouttes de la solution sodique à 6 moles pour amener le pH à 7. S'il y a floculation, on centrifuge. On passe ensuite l'échantillon sur colonne PERMUTIT, pour chasser les ions ammonium. On jette les 3 premiers millilitres de l'effluent. Le reste est collecté, divisé en deux portions de 3 ml. On ajoute 1 ml de 0,3 M NaCl et 150 mg de charbon à la première portion. La suspension est secouée vigoureusement, centrifugée et le surnageant décanté pour le dosage de l'acide glutamique. (On ajoute du charbon, afin d'enlever les particules absorbant à $340\text{ m}\mu$, longueur d'onde à laquelle on mesure l'absorption du DPNH, et afin de chasser les substances non spécifiques, produisant l'oxygénation du DPNH).

Les portions d'effluent de 3 ml sont portées à pH : 12 avec addition de 0,15 ml de 3 M NaOH.

Le mélange est alors incubé à 37°C pendant 30 minutes. Dans ces conditions, la conversion du FIGLU en acide glutamique est complète. Après l'hydrolyse, on ajoute 0,15 ml de 3 M HCL. On mélange on ajoute 1 ml de PERMUTIT sec et on agite la suspension pendant 2 minutes afin de chasser le gaz ammoniac. Le tube est centrifugé et le surnageant décanté dans un tube contenant 150 mg de charbon de bois. Le surnageant sert au dosage de l'acide glutamique.

D - DOSAGE DE L'ACIDE GLUTAMIQUE

1°- Dilution du DPN avec l'hydroxyméthylamino-méthane dans un volume égal de 0,2 M Na_2HPO_4 à pH 7,6. On ajoute 0,5 ml de cette solution à 0,5 ml de solution test (solution d'acide glutamique deshydrogénase). Tous les tubes sont incubés dans un bassin à 37°C. L'équilibre s'obtient en 15 minutes.

2°- La densité optique est déterminée 15 et 30 minutes après le début de la réaction. La lecture se fait à 340 m μ dans un spectrophotomètre de BERCHERMANN.

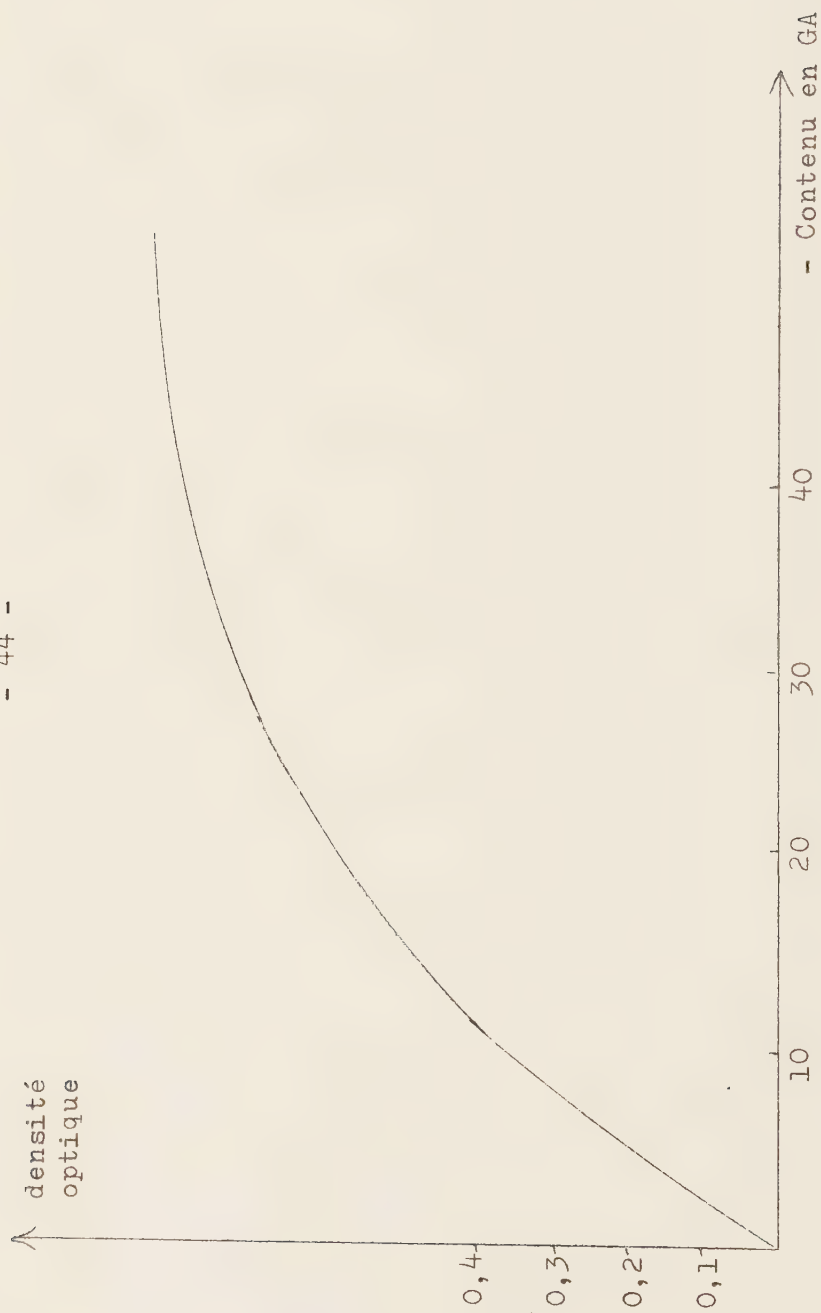
Ces courbes établies par solution standard doivent être contrôlées de temps en temps. On lit la concentration en acide glutamique à l'aide de la courbe de référence. La concentration en FIGLU est déterminée en soustrayant la concentration finale et initiale d'acide glutamique. On calcule le poids d'acide glutamique et de FIGLU en mg comme suit :

$$\text{- GA en (m M)} \times 2,96 \times \frac{\text{volume d'urine}}{1000} \times 147$$

(Poids moléculaire de GA)

$$\text{- FIGLU en (m M)} \times 3,26 \times \frac{\text{Volume d'urine}}{1000} \times 174$$

(Poids moléculaire de FIGLU)



Dosage de l'acide glutamique

E - RESULTATS

Par cette méthode, on décèle une concentration en FIGLU de 0,005 m M. Après surcharge en Histidine chez les sujets normaux, la concentration en FIGLU est (1,1 à 7,3 mg).

CHANARIN et BENNETT ont décrit en 1962 une méthode spectrophotométrique en vue d'estimer l'acide formiminoglutamique et l'acide urocanique.

Matériel -

1) Principe

On emploie un extrait de foie, contenant une préparation enzymatique pour réduire l'acide folique à une forme active et d'autre part pour transférer le groupement formimino du FIGLU à cette forme active d'acide folique. Le produit de la réaction finale est converti en : acide 5 - 10 méthényle - tétrahydrofolique avec de l'acide chlorhydrique et lu spectrophotométriquement.

2) Eau -

L'eau utilisée passe à travers une résine échangeuse d'ions.

3) Solution de substrat : KH_2PO_4 : 20 m mole ; acide citrique 2 m mole ; Mg SO_4 , 7 H_2O ; 2 m mole ; TPN 12 μmole ; acide folique : 55 μmole (0,024 g). KH_2PO_4 et l'acide citrique sont dissous et le pH ajusté à 6 avec de la potasse. L'acide folique, le TPN et le Mg SO_4 sont ajoutés et le volume amené à 100 ml. On stocke la solution à -20°C .

4) Préparation enzymatique

Toutes ces opérations sont faites à $2-4^\circ\text{C}$. Le

Le foie de Poulet gelé est découpé en tranches de 2 mm, mis dans 1,3 volume de phosphate de potassium à pH 6 et homogénéisé pendant 15 secondes. L'homogénat est centrifugé pendant 10 minutes et le surnageant dialysé. On ajuste le pH à 6 et on centrifuge le résidu insoluble. L'extrait est conservé à -20°C .

5) Solution standard -

On prépare des solutions standard de FIGLU contenant 0,5 μ mole/ML à pH : 6.

6) Echantillons d'urine -

L'urine est collectée directement dans des récipients en polythène contenant 5 ml de NaCl.

Méthode -

Une partie de l'extrait de foie est mélangée à deux parts de solution de substrat : 3 ml de la solution sont distribuées dans des tubes de verre de 12 x 125 mm et incubés à 37°C pendant deux heures. L'urine à tester est ajoutée à chaque tube.

Le montant d'acide formiminoglutamique ne doit pas excéder 0,2 mole, le volume urinaire allant de 0,01 à 0,4 ml. On ajoute de l'eau distillée pour faire un volume de 3,4 ml, le tube étant retourné 3 fois et incubé pendant un peu plus de deux heures. A la fin de cette phase, 1,5 ml de 3 M HCL est ajouté à chaque tube et mélangé. Le mélange est filtré et le filtrat clair est lu dans un spectromètre à 350 m μ .

Les tubes à tester et les contrôles sont traités de la même manière.

RESULTATS -

Les sujets normaux excrètent moins de 17 mg

d'acide formiminoglutamique après dose orale d'Histidine (1).

C - LE TEST DE CLEARANCE

Introduite par CHANARIN et ses collaborateurs en 1958, cette méthode consiste à administrer une petite dose d'acide folique intraveineuse (15 μ G/kg de poids) et de mesurer les taux d'acide folique sérique 3, 15 et 30 minutes après l'injection. Normalement, les taux d'acide folique sérique, mesurés par les méthodes microbiologiques utilisant le streptocoque fécalis sont comprises entre 75 et 186 $m\mu$ g par ml à 3 minutes, entre 21 et 80 $m\mu$ g par ml à 15 minutes et entre 4 et 49 $m\mu$ g par ml à 30 minutes.

Lorsque les réserves en acide folique sont déprimées, l'élimination est rapide. Lorsque l'acide folique est en abondance, il disparaît lentement du plasma. Ce test est quelquefois influencé par d'autres causes que celles de déficience en acide folique et notamment par un déficit primaire en Vitamine B12. Ce test est très intéressant. Cependant, car il a permis de mettre en évidence des déficits en folates subcliniques. Chez des patients présentant des diètes insuffisantes, des syndromes de malabsorption, des thérapies anticonvulsivantes, on a signalé des clearances à l'acide folique rapides, sans anomalies mégaloblastiques de la moelle.

Lorsque les demandes en folates sont exagérées comme dans la grossesse, l'hyperthyroïdie, la myélofibrose chronique, l'anémie hémolytique

(1) D'après : A SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR ESTIMATING FORMIMINOGLUTAMIC AND UROCANIC ACID. CHANARIN and BENETT. British Medical Journal 1962 - page 27.

et les leucémies, une clearance rapide en acide folique représente une utilisation augmentée d'acide folique.

D - EXCRETION URINAIRE ET FECALE DE LA RADIOACTIVITE APRES DOSES ORALES D'ACIDE FOLIQUE TRITIE

I - Matériel

On utilise de l'acide folique marqué au tritium (H^3) dont l'activité spécifique est de 100 micro Curie par mg. On sépare la molécule d'acide folique en position C_9 N10 par chromatographie sur colonne : 50 p.cent de la radioactivité est fixée sur PGA et le restant dans la portion pteridine.

2 - Préparation des solutions

On donne des doses de 20 μ C à 40 μ C. L'acide folique tritié est suspendu dans l'eau distillée et dissous dans quelques gouttes de 0,1 M NAOH. On ajoute de l'acide folique non radioactif et de l'eau distillée.

3 - Dosage radioactif dans l'urine

Les échantillons sont testés par scintillation liquidienne à $-10^\circ C$ dans un courant réfrigéré. Le liquide à scintillation est un mélange de Diphenyl oxazole et de benzène dissous dans un mélange de volumes égaux de toluène et d'éthanol. Le compteur a une efficacité de 15 p.cent pour le tritium avec 8 comptes à la seconde.

4 - Dosage radioactif dans les fécès

Les échantillons sont chauffés avec de l'acide nitrique et parachlorique pour oxydation.

5 - Procédé

On donne une dose orale ou intraveineuse de 40 μ g par Kg de poids d'acide folique tritié. On collecte les urines de 24 heures. On emmagasine l'urine pour chromatographie à -20°C . Les fécès sont gardés pendant 4 jours après administration de la dose orale d'acide folique tritié.

6 - Résultats

Des pics de concentration sérique se placent dans la première ou deuxième heure après l'ingestion de la dose orale et excède 40 μ g par ml chez les sujets ne souffrant pas de syndrome de malabsorption. Les témoins excrètent plus de 28 p.cent de la dose orale dans leurs urines, les sujets carencés en acide folique moins de 20 p.cent.

E - ABSORPTION D'ACIDE FOLIQUE

Méthode décrite en 1959 par CHANARIN, MOLLIN et POPE ; elle consiste à étudier le taux sérique d'acide folique après l'administration d'une dose orale de 40 μ g par kilog de poids. Chez les sujets normaux, le pic de concentration est toujours plus haut que 40 μ g par ml.

F - EXCRETION URINAIRE D'ACIDE UROCANIQUE

L'acide urocanique a été mesuré par la même méthode de destruction que le FIGLU : par chaleur à pH alcalin.

On dose le FIGLU et l'acide urocanique dans les urines, tous deux étant des dérivés de l'Histidine.

Après surcharge de 15 g d'Histidine, l'excrétion d'acide urocanique se situe entre 1 et 17 mg. Il existe souvent un bloc à la formation du FIGLU à partir de l'acide urocanique.

Des études ont prouvé que : 88 p.cent des échantillons contiennent de l'acide urocanique ; dans 42 p.cent des cas ce dérivé est prédominant, ce qui serait dû à la dépression d'enzyme urocanase par les taux de FIGLU tissulaires élevés. BALDRIDGE trouve une déficience en urocanase dans le foie des sujets déficients en acide folique. Cependant, l'acide urocanique peut être élevé dans les urines pour différentes causes :

- Atteinte hépatique
- Affections myéloprolifératives
- Thyrotoxicose.

V - DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE

-:-

I°- Anémies nutritionnelles

L'homme apparaît comme totalement incapable de synthétiser la structure du noyau pteridine, et est dépendant des sources de la diète en regard des pteroylglutamates et des folates. L'acide pteroylglutamique est un composé synthétique, mais des conjugués de l'acide folique tels que pteroylglutamates et heptaglutamates sont formés dans la nature. L'importance de l'acide folique dans la nutrition est due à son rôle dans le transport des unités du carbone simple, nécessaire à la croissance et à la synthèse de la N formylméthionine, essentielle pour la formation des chaînes polypeptidiques. L'utilisation par l'homme des diverses formes de folates, présentes dans la nourriture reste un problème. On ignore aussi le besoin humain normal en folates. Un moyen possible d'évaluer ce besoin consiste à noter la quantité minimum d'acide folique, requise pour produire une réponse hématologique lors d'une anémie mégalo-blastique. Mais, la quantité d'acide folique nécessaire pour convertir une hémopoïèse mégalo-blastique en un état normal est-elle la même que celle nécessitée dans des circonstances physiologiques ? Un malade présentant une anémie mégalo-blastique (non due à l'alcoolisme à une malabsorption) ne répond pas à un régime normal, ce qui tendrait à prouver que le besoin est supérieur à celui requis pour

le maintien physiologique. Il semble que la quantité d'acide folique, nécessaire chez un homme normal, soit inférieure à un mg par jour. HERBERT a noté que le taux d'acide folique sérique était maintenu avec 50 μ g d'acide folique nutritionnel.

Bien que l'acide folique soit synthétisé par des bactéries dans une large proportion, ce principe ne semble pas valable pour le corps humain. Et, on peut dire, que la source d'acide folique est la nourriture. L'acide folique se trouve distribuée dans les végétaux et dans les tissus animaux. Les sources les plus riches sont les légumes verts et en particulier: les asperges, les endives, les épinards, les choux qui contiennent plus d'un mg d'activité folique pour 100 g de poids sec. De même, le foie de Poulet, de Boeuf, les reins et en quantité moindre les muscles, en contiennent. Les diètes, peuvent cependant, perdre leur acide folique en faisant bouillir les aliments.

Il existe, par conséquent, une cause d'anémie par déficit en acide folique exogène. De nombreuses observations ont été rapportées dans des pays où l'alimentation est pauvre : Porto-Rico, Moyen-Orient ...

Ces patients souffrent, en général, de multicarences et on a notamment relevé des anémies mégaloblastiques chez de jeunes patients souffrant de KWASHIORKOR. Cette défaillance dans la ration conduit à un tableau d'hypoprotéïnémie, associé à des carences multivitaminées. Cette incidence est observée chez les grands dénutris, chez les patients inconscients, semi-comateux, ne s'alimentant guère et chez de nombreux vieillards, pour qui la diète est inadéquate. Chimiquement, on note une augmentation du FIGLU dans les urines et, des taux d'acide folique sérique bas. Il a été rapporté des carences chez de vieilles dames anglaises qui ne buvaient que du thé et cro-

quaient quelques gâteaux.

On a décrit aussi des anémies mégaloblastiques nutritionnelles du nourrisson, non sensibles à la Vitamine B12. Ces anémies peuvent être dues à l'alimentation au lait de chèvre ou un lait de vache en poudre, dues à une restriction de la diète comme pour la phénylacétonurie. Les anémies pseudo-pernicieuses du nourrisson (différentes de l'anémie de Gerbasi car elles commencent plus précocement) ne répondent qu'à l'acide folique. Cliniquement, on observe : glossopathie, troubles nerveux.

L'affection hématologique est caractérisée par :

- Anémie normochrome et habituellement macrocytaire
- Tendance à la leucopénie et à la neutropénie
- Diminution des plaquettes, souvent associée à une tendance exagérée aux hémorragies
- Une moelle mégaloblastique
- Une splénomégalie fréquente
- Une achlorhydrie histamino résistante.

Le traitement par l'acide folique entraîne pics réticulocytaires, un retour de la moelle à la normale, un taux d'hémoglobine augmenté et de plaquettes.

2°- Malabsorption intestinale

Les syndromes de malabsorption intestinale dûs à des lésions au niveau de l'intestin grêle s'accompagnent parfois d'anémie mégaloblastique.

La vitamine B12 et l'acide folique sont absorbés au niveau de l'iléon ; il semble que la vitamine B12 soit absorbée au niveau de la partie distale tandis que l'acide folique est absorbé au niveau de la partie proximale. Les conditions dans lesquelles on peut observer une déficience en folates sont toutes les causes de

diarrhées chroniques : stéatorrhée idiopathique, maladie coeliaque, sprue tropicale, maladie organique d'une portion intestinale (tuberculose intestinale, diverticulose jéjunale, résection d'une grande partie de l'intestin grêle). Le syndrome de malabsorption est mis en évidence par la biopsie jéjunale : oedème, infiltrat inflammatoire, atrophie de l'épithélium ; chimiquement par : la stéatorrhée, l'absorption du D-Xylose, l'absorption de la trioleine marquée. Du point de vue hématologique, on observe une anémie macrocytaire avec mégaloblastose ou non au niveau de la moelle. Il peut s'agir aussi bien d'une malabsorption de la Vitamine B12 et de l'acide folique. Le diagnostic différentiel entre les deux se fait sur les dosages de la vitamine B12 et d'acide folique sérique, sur la réponse thérapeutique aux doses orales et intra-musculaires quotidiennes d'acide folique.

Dans une de leurs études, les auteurs COOKE, FONE, COX et MEYNELL rapportent des cas de malabsorption et notent que dans les anémies mégaloblastiques, dues à un déficit en acide folique, on peut observer des taux de Vitamine B12 bas ce qui reflète une surconsommation de Vitamine B12 dans le but de combler un peu le déficit en acide folique. Dans ces cas, un certain taux d'acide libre, une absorption normale de Vitamine B12, une muqueuse gastrique normale sont des arguments en faveur du déficit en acide folique. D'autre part, il existe parfois un déficit conjugué en acide folique et Vitamine B12. Le traitement par ces deux principes vitaminiques augmentent la population épithéliale et la muqueuse s'épaissit. Dans la sprue tropicale, l'appétit revient quelques jours après le traitement à l'acide folique. La moelle passe de l'état mégaloblastique à l'aspect normoblastique.

Une étude publiée par le Professeur BOUSSER et ses assistants en 1964, avait souligné que la malabsorption isolée de la Vitamine B12 est rare et que la malabsorption de l'acide folique est plus souvent rencontrée.

3°- Cirrhose et Alcool

Depuis le premier cas rapporté en 1949 par JAROLD et VILTER, le pourcentage d'anémie mégaloblastique, associée à une cirrhose alcoolique est allé croissant. Le déficit en acide folique semble la cause de l'anémie mégaloblastique car les taux d'acide folique sérique sont bas tandis que les taux sériques de Vitamine B12 sont normaux ou élevés. Des réponses hématologiques aux doses physiologiques de 50 µg d'acide folique ont été démontrées. Dans tous les cas rapportés, l'anémie mégaloblastique apparaît chez des sujets cirrhotiques, s'alimentant fort peu et aucun cas d'anémie mégaloblastique n'est décrit chez des sujets atteints de cirrhose post-nécrotique. On a rapporté de nombreux cas d'anémie mégaloblastique chez des patients atteints d'hémochromatose.

Les tests du FIGLU et d'acide urocanique dans les urines ne sont pas probants d'un déficit en acide folique chez ces patients, car on a attribué leurs anomalies à un déficit de FIGLU réductase. D'autre part, ce test ne détecte pas le déficit modéré ; par contre, une clearance d'acide folique rapide est parfois précurseur de changements mégaloblastiques dans la moelle. Des ponctions biopsies du foie ont montré des taux de folates tissulaires bas.

Il semble que la prise nutritionnelle inadéquate et insuffisante de folates soit la cause majeure, l'état cirrhotique, étant le terrain requis pour produire un déficit en acide foli-

que. D'autre part, une demande exagérée de folates, secondaire à l'hyperactivité de la moelle peut contribuer au développement du déficit chez le cirrhotique. La sévérité de l'atteinte hépatique a son rôle dans le développement d'une carence en acide folique par les complications qu'elle entraîne :

- saignement de varices oesophagiennes
- hypersplénisme

Ces complications résultent en une hyperactivité médullaire.

L'alcool a un effet spécifique, en interférant avec les coenzymes foliques et, SULLIVAN, HERBERT (1964) furent capables de produire une anémie mégaloblastique avec régularité chez l'un de leurs patients après une quantité suffisante de vin, whisky ou d'éthanol pur. Néanmoins, il est probable que l'alcool ait cet effet seulement quand les réserves de l'organisme sont épuisées en acide folique.

4°- Besoins accrus

- a) grossesse
- b) anémie hémolytique
- c) myélofibrose
- d) tumeurs
- e) polyglobulies

a) La grossesse

Parmi les anémies mégaloblastiques dues à une demande excessive d'acide folique, la plus importante est celle qui s'associe à la grossesse. On a avancé que cette anémie est présente chez au moins une sur 30 femmes enceintes.

À la fin de la grossesse normale, il existe souvent des changements morphologiques mégaloblastiques bien que le mécanisme en soit peu connu et on ne peut diagnostiquer un déficit en

acide folique sur ces quelques anomalies. HANSEN a prouvé, dans son étude, que la moitié des patientes enceintes en bonne santé apparente, avaient des taux de folates sériques inférieurs à la normale, et que 14 p.cent ont des valeurs sériques au-dessous du taux des folates de patientes carencées en acide folique, non enceintes.

TEMPERLEY, MEEHAM, et GATENBY ont sélectionné un groupe de femmes enceintes et ont suivi les taux d'acide folique sérique et les clearances en acide folique. Au fur et à mesure, que la grossesse avance, le taux d'acide folique diminue tandis que la clearance en acide folique augmente. Ces observations conduisirent naturellement à dire que l'anémie mégaloblastique de la grossesse est due à une déplétion en acide folique.

En 1964, BAKER, trouva peu significative la différence des taux d'acide folique sérique chez les femmes enceintes avec érythropoïèse normoblastique et érythropoïèse mégaloblastique.

En 1965, CHANARIN, ne put prédire des changements mégaloblastiques dans la moelle des patientes, ayant un taux d'acide folique fort bas.

En conclusion :

Le taux d'acide folique sérique maternel tombe dans les trois premiers mois de la grossesse d'une manière faible. Petit à petit, le taux tombe graduellement jusqu'à la 36^e semaine, ce qui peut être dû à une absorption à travers le placenta avant la délivrance. On a essayé d'évaluer les besoins requis en acide folique au cours de la grossesse. Il semble, qu'en fin de grossesse, le besoin minimal se situe aux alentours de 300 μ g par jour.

L'excrétion urinaire du FIGLU décroît avant

la 16^e semaine et est à 7 μ g à la 35^e semaine. Ce déclin, serait dû à la perte urinaire, marquée en Histidine pendant la grossesse, en raison d'un seuil rénal abaissé et d'une utilisation de l'Histidine pour la synthèse protéique ; aussi, ce test a peu de valeur dans la grossesse.

Dans le post-partum, l'acide folique sérique ne remonte pas à un taux normal tout de suite. Après la délivrance, il peut être de l'ordre de 5 m μ g et surtout, si la patiente allaite l'enfant d'une manière prolongée, l'anémie mégaloblastique va se produire ou se prolonger.

b) Anémie hémolytique

L'anémie mégaloblastique a rarement été rapportée comme complication d'une anémie hémolytique ou d'une hémoglobinoopathie congénitale. Le premier cas a été rapporté par CROSBY et SACKS en 1949 qui décrirèrent une anémie mégaloblastique chez un jeune homme atteint de thalassémie. Un petit nombre de ces exemples a été rapporté chez des patients avec anémie hémolytique acquise ou sphérocytose héréditaire, thalassémie ou drépanocytose.

La mégaloblastose, ou les anémies morphologiques cellulaires telles que métamyélocytes géants sont retrouvés à la lecture du myélogramme. Des taux sériques en folates bas, de même qu'une clearance rapide à l'acide folique, sont d'autres arguments.

Il est important de choisir des sujets ne présentant pas d'autres causes de consommation exagérées d'acide folique telles que la grossesse car il serait alors difficile d'éliminer une coïncidence.

Les changements mégaloblastiques apparaissant dans une anémie hémolytique sont sûrement plus fréquents qu'on ne pourrait le supposer. L'ab-

sence de changements mégaloblastiques d'indiquer pas, qu'il n'y ait pas de déficit en acide folique, mais la production de mégaloblastes typiques ne peut pas toujours être attendue s'il y a un déficit dans la synthèse de l'hémoglobine.

c) Myélofibrose

La production de cellules anormales dans les leucémies, les myélomes entraîne l'étouffement des lignées normales et la fabrication de ces cellules jeunes, comptant de nombreuses mitoses a pour effet d'effondrer le taux d'acide d'acide folique sanguin.

d) Tumeurs

Les tumeurs : diverses variétés de cancers, maladie de Hodgkin par la production de nombreuses cellules entraînent une consommation exagérée d'acide folique. Le rôle de l'acide folique étant primordial dans la formation du DNA, au fur et à mesure que la tumeur croît, l'acide folique est consommé et on trouve des taux d'acide folique sérique bas chez les patients atteints de tumeurs malignes.

e) Polyglobulies

Chez des patients atteints de polycythémie, on a mis en évidence des taux d'acide folique anormaux. Le test au FIGLU a été positif chez deux patients sur quatre. Et de nombreux patients possédaient des polynucléaires neutrophiles hypersegmentés. Le déficit en acide folique fut réellement mis en évidence par le dosage sérique qui montra un taux de folates de l'ordre de $1,6 \mu \text{ mg}$ par ml. On obtint une bonne réponse hématologique grâce à l'administration de $200 \mu \text{ g}$ d'acide folique par jour per os.

5°- Les effets de l'Hémodialyse

Une carence en acide folique a été trouvée chez des patients, atteints d'urémie terminale, traités par hémodialyse continue.

Chez ces patients, qui ne recevaient aucun antibiotique, ni aucune préparation vitaminée, on a mis en évidence des taux de folates sériques bas. Il semble d'après les études pratiquées à l'Université Mc GILL de Montréal, que le poids moléculaire faible de l'acide folique et son manque de liaison dans le plasma le rendent plus facilement dialysable. Au contraire, la vitamine B12 fermement liée aux protéines du plasma ne dialyse pas. Un régime équilibré, riche en acide folique peut prévenir ces baisses significatives d'acide folique.

6°- Les états fébriles et les infections chroniques

Il est démontré que les affections fébriles, causées par des microorganismes ou des virus peuvent provoquer des changements mégaloblastiques. La température élevée du corps humain aurait un effet néfaste sur les réserves en acide folique et pourrait démasquer ainsi une anémie mégaloblastique.

De même, les infections chroniques, telles que la tuberculose, entraînent chez des patients des anomalies sanguines compatibles avec un déficit en acide folique. Le taux d'acide folique sérique est bas tandis que le taux sérique de la Vitamine B12 est normal. Il est possible, que l'utilisation exagérée d'acide folique, au cours de la tuberculose, puisse prédisposer à un déficit non corrigé par une diète ordinaire.

7°- Les antagonistes de l'acide folique

a) Les médicaments antiépileptiques

La première description d'anémie mégaloblastique, survenue comme complication probable d'une thérapeutique anticonvulsivante fut décrite en 1952 par MANNHEIMER. Il est maintenant établi que l'anémie mégaloblastique survient après l'administration de : diphenylhydantoïne, primidone, phénobarbitone et diverses associations médicamenteuses. Ces anémies mégaloblastiques s'accompagnent de taux sériques de Vitamine B12 parfaitement normaux, mais parfois de taux d'acide folique sérique subnormaux. Cependant, même s'il n'existe pas toujours un taux d'acide folique diminué, le test thérapeutique à l'acide folique fait toujours disparaître la macrocytose. Il ne semble pas y avoir de relations entre le dosage des antiépileptiques et l'abaissement du taux d'acide folique.

On pense que les antiépileptiques agiraient en bloquant le métabolisme de l'acide folique, mais on ne sait pas à quel niveau, contrairement à ce qui se passe avec les médicaments antifoliques, l'addition de phénantoïne n'inhibe pas in viro la croissance de L Casei.

HERBERT pense qu'il y aurait une faible inhibition compétitive lors de la conversion de 5, 10 Méthényle (PH_4) en 5 Méthyle FH_4 pour les Hydantoïnes. En ce qui concerne les barbituriques, il s'agirait d'un blocage au niveau de la conversion de l'acide orotidylique en acide uridylique. Pour la primidone, il y aurait une interférence en regard de la phosphorylation de la thymidine en acide thymidylique.

b) Les médicaments antifoliques

Ces médicaments, véritables substances antagonistes de l'acide folique sont utilisées dans

les processus malins pour freiner l'évolution de la tumeur. Ces substances, telles que l'aminoptérine, la pyrimethanine, entraînent un blocage dans le métabolisme de l'acide folique en empêchant la réduction de l'acide dihydrofolique (FH_2) en acide tétrahydrofolique (FH_4). Après une semaine de thérapeutique, le taux d'acide folique décroît.

-:-

VI - TEST THERAPEUTIQUE ET DIAGNOSTIC

-:-

Les auteurs suédois HARALD, HANSEN et ALEKSANDER WEINFELD ont souligné le rôle du test thérapeutique pour différencier les anémies pernicieuses et celles dues à un déficit en acide folique.

Ils divisèrent les patients en deux groupes:

- ceux atteints de carence en Vitamine B12, biochimiquement établie
- ceux atteints de carence en acide folique, biochimiquement établie.

Et ils étudièrent sur ces II groupes les réponses réticulocytaires après l'administration de petites doses d'acide folique et de Vit.B12.

Il semble que les différences soient significatives.

Le taux des réticulocytes augmente d'une manière très sensible après administration de petites doses de Vitamine B12 chez les Biermé-riens. Par contre, le taux des réticulocytes augmente après administration de petites doses d'acide folique chez les malades déficients en acide folique, tandis que la réponse réticulocytaire est presque nulle après administration de petites doses de vitamine B12.

Les doses d'acide folique utilisées furent de 0,1 à 0,4 mg I.M. par jour et celles de Vit. B12 de 2 à 5 mg I.M par jour.

L'image médullaire se normalise en fonction de la thérapeutique adéquate.

Le taux du fer sérique diminue après le 7^e jour de la thérapeutique dans l'anémie pernicieuse, traitée par petites doses de Vit. B12 ou PGA. Ceci indique qu'il existe un changement dans l'activité érythropoïétique pendant le traitement de l'acide ptéroylglutamique.

L'excrétion du FIGLU diminue après la thérapeutique dans le cas d'une déficience en acide folique. Des doses importantes de Vitamine B12 n'affecte pas l'excrétion du FIGLU.

Ainsi, il existe de nombreuses causes à une carence en acide folique, et à la lueur de ces données théoriques, nous allons présenter quelques cas, étudiés à l'Hôtel Dieu de QUEBEC dans le service du Docteur Pierre d'AUTEUIL, et voir quels sont les tests qui nous ont été les plus utiles pour établir un diagnostic précis.

Cette étude, faite sur une centaine de cas, a, surtout, eu pour but de mettre au point la méthode de dosage de l'acide folique sérique avec L Casei. Le laboratoire a eu quelques difficultés à instituer une courbe standard et à évaluer une moyenne pour un taux d'acide folique sérique normal. Cependant, les cas présentés ici, étaient tous porteurs de taux d'acide folique franchement perturbés par rapport aux sujets normaux que nous avons investigués. Nous considérons que la normale est $> 5 \text{ m } \mu\text{g/ml}$ dans le sérum.

La méthode de dosage de l'acide folique est en tout comparable à la méthode décrite par WATERS et MOLLIN. Nous y avons apporté quelques précisions supplémentaires, notamment dans le soin donné à la verrerie, pour éviter toute contamination exogène d'acide folique.

- Lavage avec détergent : microsolv.

La verrerie est bouillie dans le bain d'un appareil à ultrasons durant 1 heure à 3 heures.

- Rinçage à l'eau courante tiède, puis à l'eau distillée.

- Deux autoclavages à 15 Ib/PO2 pendant 15 minutes chacun. Toute la verrerie est plongée dans l'eau distillée.

- Asséchage au four Pasteur 160°.

- Stérilisation.

Nous n'avons pas pu obtenir un bon rendement, avec la recherche du FIGLU dans les urines. Aussi ce test manque à toute notre étude.

ETUDE DE QUELQUES CAS CLASSES PAR ETIOLOGIE

I°- Anémie nutritionnelle

Soeur P ... 77 ans

1) Antécédents : Tuberculose pulmonaire à l'âge de 65 ans traitée par Streptomycine et Isoniaside.

2) Histoire actuelle

Depuis un an, la patiente présente une confusion progressive avec un état de désorientation important, perte de repères spatiaux et temporels.

L'examen révèle :
pâleur généralisée des téguments et des muqueuses,
langue lisse et dépapillée,
pas de viscéromégalie
hypotonie musculaire
hyporéflexie tendineuse
sensibilité superficielle et profonde,
impossible à rechercher du fait de la non coopération du malade
incontinence urinaire.

3) Examens complémentaires

Hémogramme	Hb	=	5,75 g %
à l'entrée	VGM	=	113 μ 3
	GR	=	1 730 000
	Ht	=	19,6
	Thrombopénie	:	100 000 plaquettes
	Leucopénie	:	3 550 leucocytes

Myélogramme

- Moelle très cellulaire - rapport G/L = 1,3
- Macronormoblastose et hyperplasie erythroblastique
- Métamyélocytes
- Polynucléaires plurisegmentés.

Fer sérique normal -

- Test de SCHILLING normal : 26 p.cent excré-
tion de la Vitamine B12 marquée dans les uri-
nes de 24 heures (Nle : 7 p.cent ou plus).

LDH : augmentée à 1150 unités

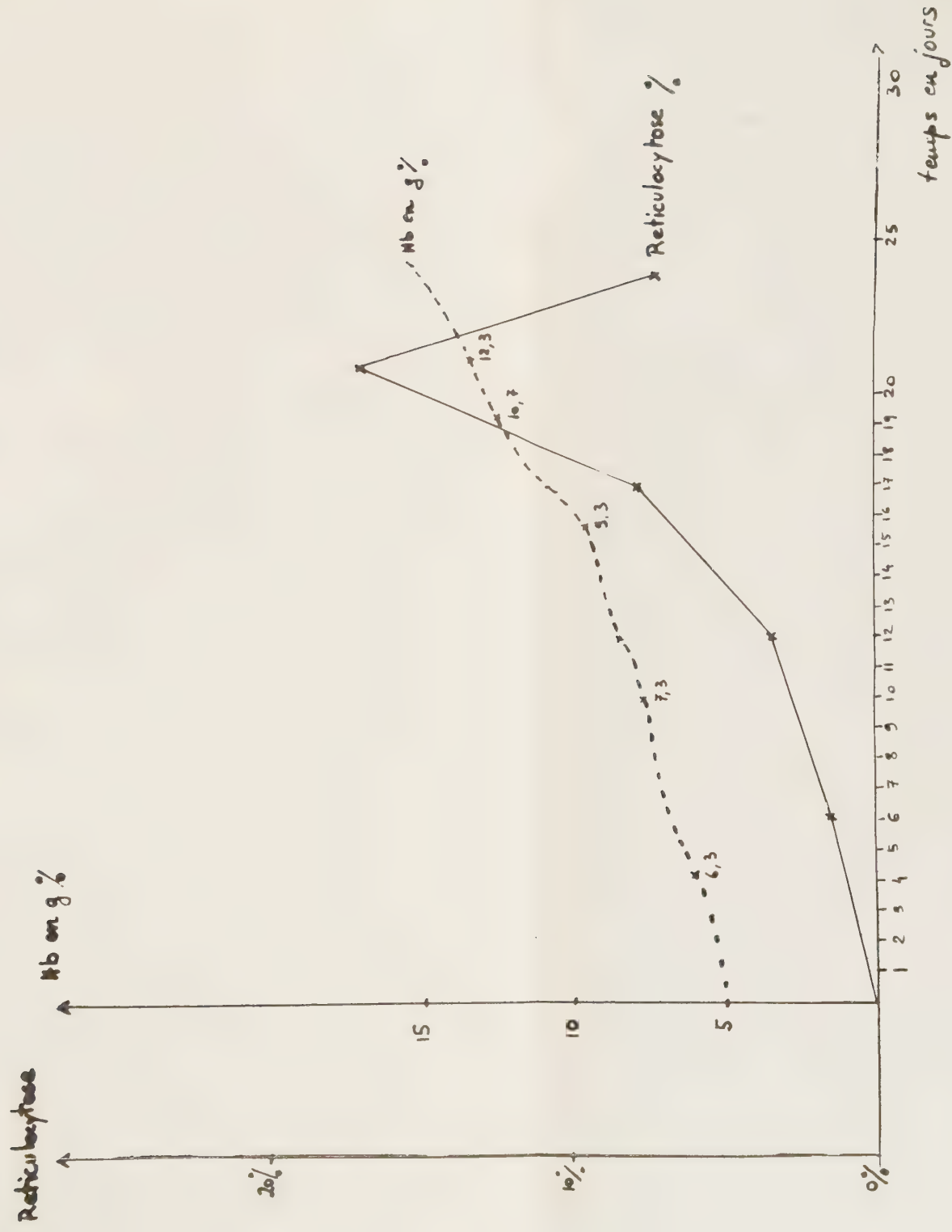
Tests de résistance globulaire : normaux.

Formule d'ARNETH :

Polynucléaires neutrophiles	{	I lobe	:	5
		II	:	26
		III	:	37
		IV	:	25
		V	:	6
		VI	:	1

On apprend, que cette malade, ne mange de-
puis 10 ans que du gruau à tous les repas. Sa
diète est très insuffisante en calories, acides
aminés essentiels en protéines totales, en ri-
boflavine et vitamine A.

On rattache cette anémie macrocytaire à une
carence en acide folique par manque d'apport.
On pratique un dosage d'acide folique et, en-
suite on essaie un test thérapeutique (acide
folique : 3 mg I.M.) en suivant les courbes
d'hémoglobine et de réticulocytose, tous les
trois jours.



Chez cette patiente, le test thérapeutique avait donc amplement réussi : la réticulocytose était montée à 18,2 p.cent et le taux d'hémoglobine à 12,3 g p.cent. On notait en même temps une amélioration sur le plan psychique. La patiente semblait moins désorientée et son appétit augmentant, on put établir une ration alimentaire satisfaisante. Le dosage d'acide folique sérique confirme notre diagnostic présumé : 4,0 m μ g/ml Nle (> 5 m μ g/ml).

Peu après ce cas, nous eûmes sensiblement le même chez une religieuse de 80 ans, confuse, grabataire qui présentait une anémie macrocytaire à 8,3gp.cent VGM : 100 m. La moelle montrait une légère mégaloblastose, des polynucléaires hypersegmentés, des métamyélocytes géants. Le dosage de la Vitamine B12 sérique était normal : 755 pg/ml (Nle : 200 à 900). Le traitement par l'acide folique, après prélèvement pour dosages sériques, montre une ascension de la courbe d'hémoglobine et de réticulocytose.

Dosage d'acide folique sérique : 2,0 m μ g/ml.

o

II - MALABSORPTION INTESTINALE

Monsieur M... 81 ans

Ce patient était traité à l'Hôtel Dieu de QUEBEC pour radiothérapie sur un épithélioma de la lèvre inférieure. En même temps, le malade se plaint de diarrhée importante : 6 à 7 selles par jour, selles flottant sur l'eau. Cette diarrhée existe depuis quatre ans, mais va en s'exacerbant. D'autre part, le malade est asthénique et présente un certain amaigrissement.

A l'examen :

Pâleur cireuse, langue décapillée
pas de viscéromégalie, pas d'adénopathies
Examen neurologique normal.

Examens complémentaires :

I) Hémogramme	HB	:	9,3 g %
	VGM	:	123 m μ 3
	GB	:	7 900
	Réticulocytes:		0,2 %
	Thrombocytes :		normaux

2) Fer sérique : normal

3) Enzymes	LDH	790	(N : 200-500)
	HBD	172	(N : 140)

4) Myélogramme

Moelle très cellulaire
Mégalo blastose
Métamyélocytes géants

L'association d'une anémie mégalo blastique avec une symptomatologie fonctionnelle de diarrhée conduisit à faire des investigations du point de vue d'une malabsorption éventuelle. On élimina d'abord une anémie de Biermer.

5) Test de Schilling : 0 p. cent d'excrétion de la vitamine B12 marquée dans les urines de vingt quatre heures (N : 7 p.cent ou plus) repris 10 jours après avec facteur intrinsèque: 1 p.cent d'excrétion de la Vitamine B12 marquée dans les urines.

6) La chlorhydrie du liquide gastrique, stimulée par le test à l'Histamine et recueillie par tubage gastrique est présente.

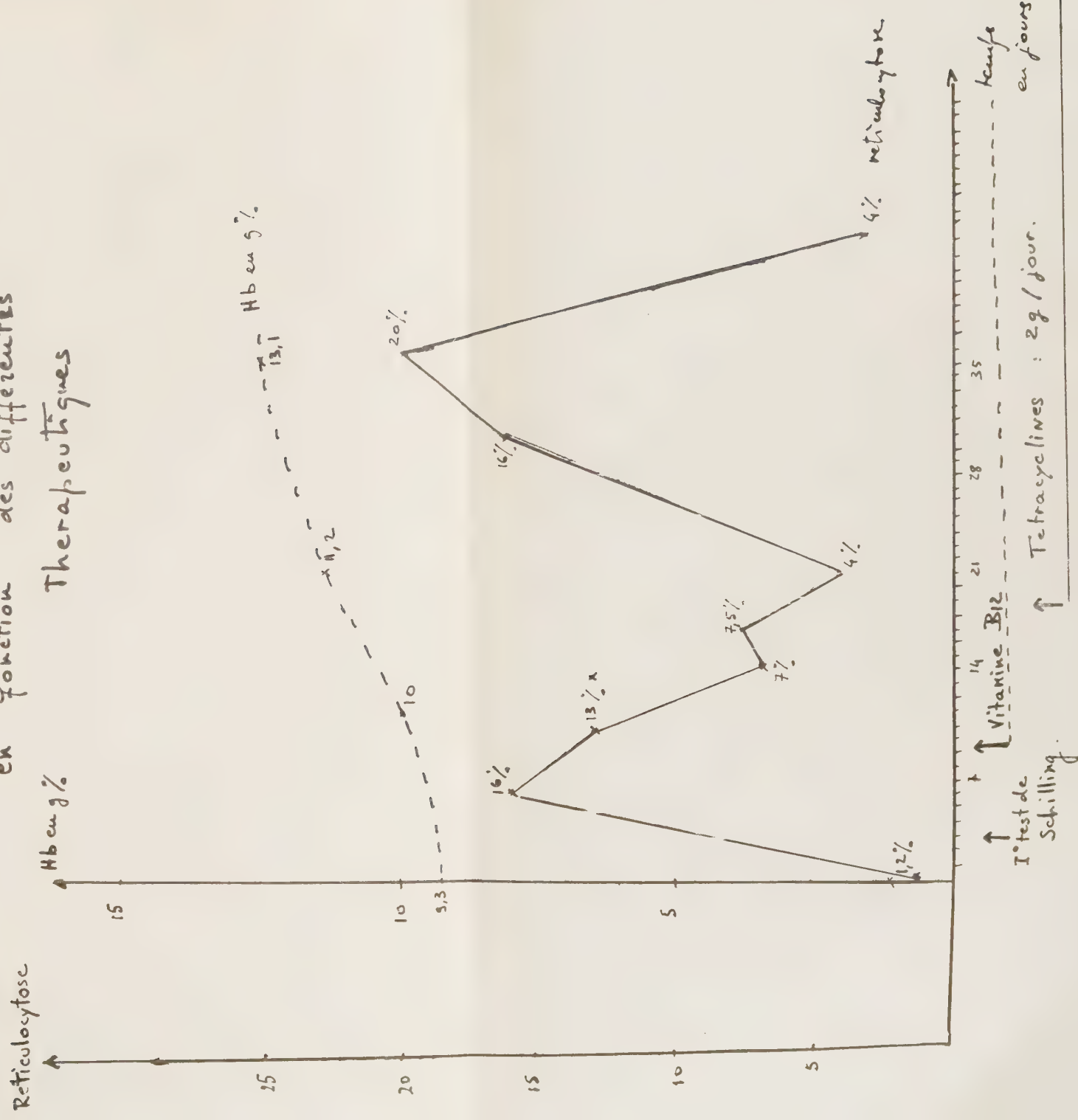
7) Explorations digestives

- Transit digestif : multiples diverticules du grêle

- Stéatorrhée

- L'excrétion du D-xylose après ingestion d'une dose standard de 25 g montre une excrétion inférieure à la normale. Pour cinq heures de collection, on retrouve dans les urines 1,58 g/330 ml (N : 4,1 - 8,2).

Courbes d'Hémoglobine et de Réticulocyte en fonction des différentes Thérapeutiques



D'après ces courbes, on voit que :

Un pic de réticulocytose à 16 p.cent est enregistré après le premier test de Schilling. La thérapeutique par la Vitamine B12 ne suffit pas à rétablir la courbe d'Hémoglobine. Aussi, on administre des antibiotiques : tétracyclines à la dose de 2 g par jour, destinées à empêcher la croissance des bactéries intestinales qui consomment de l'acide folique. On voit qu'il existe un deuxième pic de réticulocytose. On peut donc penser, qu'il y a, une malabsorption concomitante pour la vitamine B12 et l'acide folique.

Les dosages de vitamine B12 sérique et d'acide folique sérique pratiqués avant le premier test de Schilling ont confirmé le diagnostic.

Dosage de Vitamine B12 : 59,5 pg/ml
(Nle : 200 à 900 pg/ml).

Dosage de l'acide folique : 4,5 m μ g/ml.

Dans le service, nous avons observé d'autres cas semblables en rapport avec une pathologie intestinale, notamment chez une religieuse de 67 ans atteinte de tuberculose iléo-coecale et qui avait subi une résection d'une large portion de l'intestin grêle.

Tous ces cas, s'accompagnaient d'une anémie macrocytaire qui fut corrigée par les thérapeutiques conjuguées : Vitamine B12 et acide folique.

o

III - CIRRHOSE et ALCOOL

Nous avons pratiqué chez plusieurs patients cirrhotiques des dosages d'acide folique sérique même s'il n'y avait pas de symptomatologie hématologique et dans un grand nombre de cas

les taux d'acide folique sérique étaient inférieurs à la normale.

Monsieur P.M. . 41 ans

Thrombopénie isolée chez un alcoolique cyclique mais chronique.

Dosage d'acide folique : 3,5 m μ g/ml

Monsieur Robert D... 58 ans

Cirrhotique connu, présentant une polyglobulie à 18,3 g p.cent et une thrombopénie à 36 000 plaquettes.

Dosage d'acide folique : 5,2 m μ g/ml

Monsieur D ... 46 ans

Passé alcoolique

Tableau clinique et biologique d'hémochromatose.

Dosage d'acide folique : 4,6 m μ g/ml.

o

IV - BESOINS ACCRUS

Madame Donat D .. 62 ans

Antécédents :

Polycythémie en 1960 avec :

HB : 21,90 p.cent GR : 8 200 000

GB : 12 500 PN = 74 p.cent

fut traitée par P32 : 4,3 MC.

Histoire actuelle :

A l'entrée : asthénie - diaphorèse

Examen : splénomégalie importante

réticulocytose : 7,8 p.cent

Hémogramme : Hb : 6,3 g p.cent

GB : 22 200

Thrombopénie: à 71 000

Myélogramme : Densité cellulaire modérée
Hyperplasie érythroblastique avec altération
mégalo-blastoïde modérée
Prémégalo-blastose.

Test de Schilling : 14 p.cent excrétion dans les urines.

Fer sérique : 1,30 mg/l
LDH = 1400 HBD = 950

Un dosage d'acide folique montre :
2,5 m μ g/ml.

Considérant ce déficit, la patiente reçut 15 mg par jour d'acide folique. L'hémoglobine remonte un peu et la réticulocytose augmente jusqu'à 20 p.cent.

Cependant, dans l'évolution, malgré la thérapeutique, l'hémoglobine tombe à 3,65 g p. cent, la thrombopénie est à 80 000.

La patiente subit une splénectomie pour hypersplénisme après transfusion.

Q

Frère NICEPHORE B ... 74 ans

Patient présentant des troubles vasculaires avec hypertension artérielle et insuffisance coronarienne qui consulte pour asthénie progressive.

Examen :

pâleur des téguments
hépatomégalie
pas d'adénopathie
température 38°C

Examens complémentaires

Hémogramme : HB : 10,9 g %
GB : 10 150
Réticulocytes : 1 %
PN : 75 %
Thrombocytes normaux

- Sédimentation : VS = 100
- Phosphatase alcaline : 131 (N = 2,2 à 3,6)
- Test de Schilling normal
- Ponction sternale : nombreux plasmocytes
- Biopsie de l'artère temporale normale
- Recherche négative des problèmes de Bence Jones dans les urines.

Dans cette affection ressemblant à un myélome, nous avons fait un dosage d'acide folique sérique : 3,2 m μ g/ml.

o

LES MEDICAMENTS EPILEPTIQUES

Mademoiselle Emma H .. 39 ans

Epileptique reconnue, arrive à l'Hôtel Dieu de QUEBEC, pour dyscrasie sanguine, apparue en décembre 1968, et décelée dans un hôpital des environs.

Depuis l'âge de 10 ans la patiente reçoit :
Phénobarbital : 0,30 g/jour
Mysoline : 125 mg 3 fois par jour.

Etat actuel

Arriération mentale

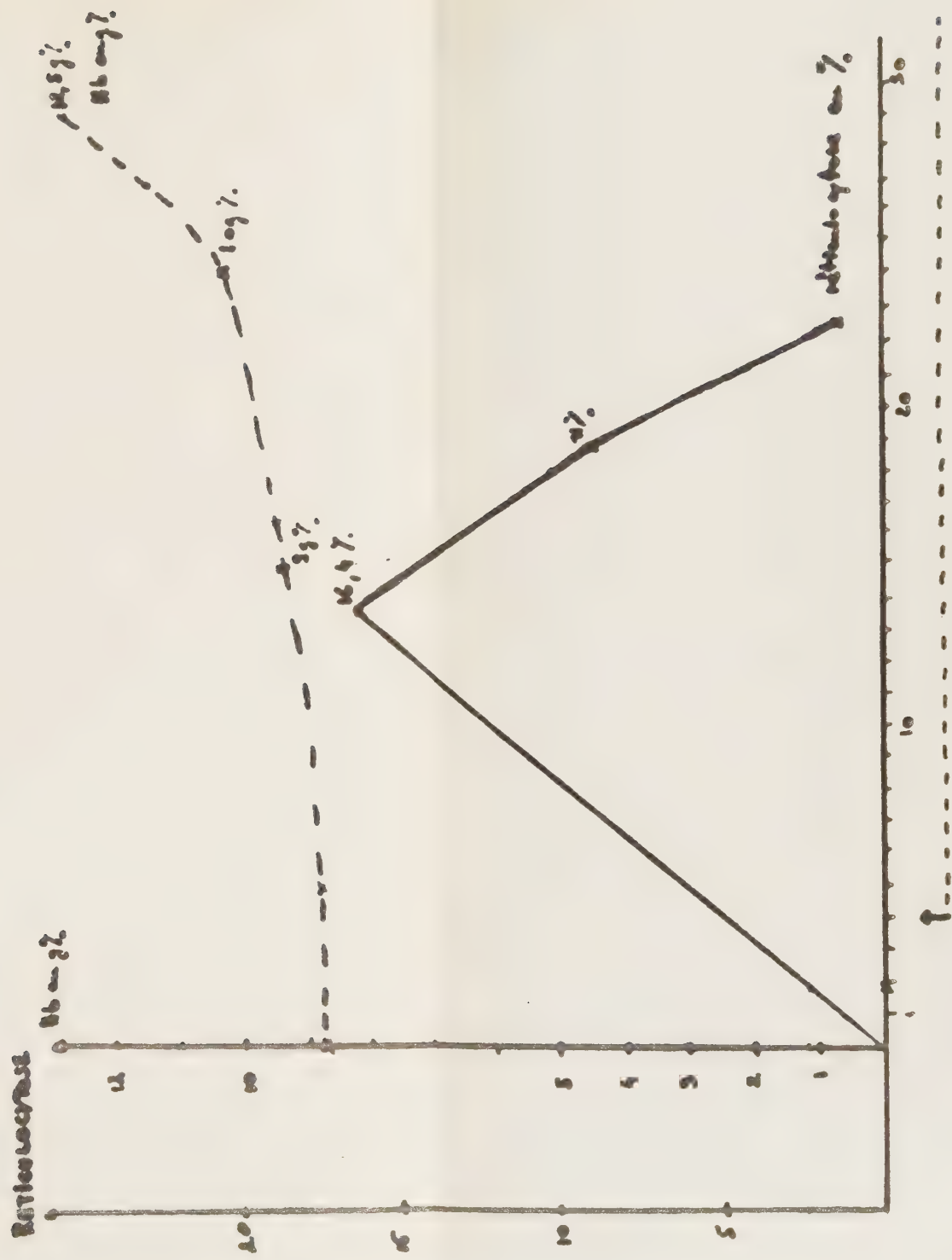
Malade inconsciente ne répondant à aucun stimulus tactile, ni douloureux.

Patientte très maigre, pâle, présentant des plaques ecchymotiques.

Examen neurologique : Hypotonie avec aréflexie totale.

Biologie -

Hémogramme : Hb : 8,7 g %
VGM : 115 m μ ³
GB : 12 100
Thrombocytes : 900 000



- Acide folique -

Test de Schilling : 17 p.cent excrétion vitamine B12 dans les urines donc normal.

Myélogramme : absence de cellules myéloïdes au niveau de la tête du sternum.

Bilan sérique : Hypoprotéïnémie
Hypolipémie
Hypoazotémie

Cette patiente présentait un syndrome de carences multiples dues à l'insuffisance de la diète et de plus prenait des antifolates depuis 29 ans.

Après un dosage sérique d'acide folique, on institue un traitement :
Acide folique 5 mg 3 fois par jour et contrôle de la réticulocytose tous les 3 jours.
Dosage d'acide folique sérique : 3,0 m μ g/ml.

On atteignit avec la thérapeutique par l'acide folique un pic de réticulocytose à 16,4 p. cent tandis que l'hémoglobine remontait à 12,5 g p.cent.

o

Madame Jean THOMAS N ... 65 ans

Hospitalisée pour état fébrile important en rapport avec une pyélonéphrite chronique.

A l'entrée :

Ab : G %

Leucopénie :

2300 avec polynucléaires neutrophiles	56 %
" " éosinophiles	2 %
Stabs	117 %
Juéniles	1 %
Lymphocytes	16 %
Plaquettes	120 000

Myélogramme -

Moelle très cellulaire. Métamyélocytes géants. Pas d'autres signes de Mégaloblastose.

Hyperplasie érythroblastique et granulocytaire marqué.

Réaction de Perls : 7 p.cent de sidéroblastes.

Test de Schilling normal : 19 p.cent excrétion de Vit. B12.

Dosage d'acide folique sérique : 5,0 m μ g/ml.

- A reçu un traitement d'acide folique oral de 5 mg.

En un mois on nota une correction de la leucopénie. L'anémie se normalisait graduellement.

o

Monsieur Xavier E... 50 ans

Renseignements :

Patient admis par le service de Radiothérapie pour :

Lymphome mésentérique, découvert après laparatomie exploratrice.

L'anatomie pathologique révèle : un lymphome gigantocellulaire de Bryll Synners.

Les examens biologiques objectivent une thrombopénie isolée à 50 000. Le reste de la formule sanguine est normale.

La ponction sternale est impossible à faire en raison de la dureté de l'os.

Un dosage d'acide folique est pratiqué : 4,8 m μ g/ml.

Départ - Acide folique : 3 mg/IM par jour.

Le patient est revu quatre mois après, la thrombopénie est presque corrigée à 20 000 plaquettes.

CONCLUSIONS

-:-

Ainsi le diagnostic de carence en acide folique n'est plus seulement fondé sur des hypothèses, il peut se prouver.

Les aspects théoriques et pratiques de la question nous amènent à penser qu'on peut émettre ce diagnostic sur le contexte clinique et hématologique. Cependant, l'aspect clinique est en général très flou, masqué pendant des années, par l'étiologie responsable. L'aspect hématologique d'une anémie macrocytaire est un indice trop faible pour pouvoir trancher le problème ; quelquefois d'ailleurs il manquera: une thrombopénie et une leucopénie seront les seules anomalies.

Nous avons vu, que le test thérapeutique peut rendre à lui seul de grands services, au cas, où les laboratoires ne seraient pas équipés pour réaliser des dosages biochimiques. Cependant, nous préférons le voir comme le triomphe de la thérapeutique après un diagnostic déjà établi.

C'est donc avant tout, grâce à la biochimie que nous pouvons affirmer ou infirmer le diagnostic de carence en Acide folique.

Les tests explorant la vitamine B12 seront d'un précieux appui pour exclure une anémie Biermerienne.

Le dosage de l'acide formiminoglutamique semble avoir déçu de nombreux auteurs par son imprécision et ses variantes.

Beaucoup plus utile est le dosage de l'acide folique sérique par la méthode microbiologique, utilisant L Casei à condition que la méthode soit scrupuleuse. C'est un excellent test, très sensible qui nous autorise à juger exactement de la carence. La méthode de WATER et MOLLINS nous semble la plus rigoureuse, mais il faut continuellement surveiller le matériel employé : verrerie, souches microbiennes, milieu de base.

L'étude systématique du dosage sérique en acide folique chez plusieurs patients a éclairci le fait qu'il peut exister des dosages en acide folique perturbés, en rapport avec l'étiologie de leur maladie, sans anomalie hématologique. Par exemple, chez bien des hémodialysés, nous avons trouvé un taux d'acide folique sérique bas sans aucune manifestation hématologique. En adoptant un protocole strict des tests et en gardant un ordre chronologique, on arrive à cerner le problème d'une carence en acide folique, qui peut être isolée mais parfois aussi associée à un déficit en vitamine B12.

-:-

Vu :

Le Président :

Signé : J. BOUSSER

Vu :

Le Doyen Honoraire,
Administrateur Provisoire
de la Faculté de Médecine
Signé : G. BROUET

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris :

Signé : R. MALLET

BIBLIOGRAPHIE

-:-

1) Historique

Précis d'Hématologie - Professeur Jean BERNARD.

B. VITAMINS -

For blood formation by Thomas H. JUKES.

2) Métabolisme

Biochemistry - HARPER

3) Diagnostic clinique

"Folate deficiency and Neurological disease".
GRANT et HOFFBRAND

Abs of World Medecine 1966, vol.39, n°4,
237.

"Dementia and folate deficiency".

STRACHAN, HENDERSON

(Quart J.Med., 36 - 142).

4) Diagnostic Hématologique

"A Clockface chromatin pattern in the intermediate megaloblast of vit.B12 or folate deficiency".

Lawrence KUSS -

Blood 1968, 32, 5, 711-716.

Aspects cytogénétiques et cytochimiques du gigantisme cellulaire provoqué par les anti-mitotiques.

Nouvelle revue française d'Hématologie 1964,
3, 395 - CASTOLDI et MALACAME.

"Biochemical and Hematologic lesions in folic acid deficiency".

The American Journal of chemical nutrition.
vol.20, n°6 - june 1967, pp.562-569.

5) Diagnostic biochimique

Studies on the folate activity in human serum.

WATERS et MOLLIN

(J. Clin. Path. 1961, 14, 335).

Aspects chimiques de la déficience en acide folique.

Nouvelle Revue Française d'Hématologie.

tome 5, 1965, n°5 - pp.681-688 - CHANARIN

On the diagnosis of folic acid deficiency,

by HARALD HANSEN

Acta Obstetrica Scandinava 1967, pp.13-37

45 supplément 7.

Studies on Identification of folate compound of human serum.

HERBERT, LARRABEE, BUCHANAN

J. Clin. Invest. 41, 1962, 1134.

Mechanism of serum lactate dehydrogenase

(SLDH) elevation in megaloblastic anemia.

STEIN, KOCHWA, ZALUSKY

American Society of Hematology 1960 "Blood".

"Folate Activity in reticulocytes and the incorporation of tritiated pteroylglutamic acid into red cells"

IZAK, RACHMILEWITZ

Brit. J. Haemat. 1968, 14, 447.

"Enzymatic method for the assay of GA and FIGLU"

M. MEISS, Donald PEYSER, Aaron MILLER

J. Lab. and clin. Med. 1966 - vol.64 , n°3, 512-518.

"The Urinary Excretion of orally administered tritium labelled folic acid as a test of folic acid absorption".

Blood 1963, 21, 626.

Urocanic Acid and FIGLU excretion in megaloblastic anemia and other conditions.
Brit. J. Haematology 1963, 9, 141. CHANARIN

Studies on the serum : Folic Acid activity of human serum.

WATERS and MOLLIN

J. Clin. Path. 14, 335, 1961.

Histidine loading test.

British Journal 1969, 12 April, pages 100-102.

A spectrophotometric method for estimating FIGLU and Urocanic acid.

CHANARIN and BENETT

British Medical journal 1962, page 27.

Metabolic effects and diagnostic value of small doses of folic acid and B12 in megaloblastic anemias, by HARALD HANSEN and ALEKSANDER WEINFELD

Acta Medica scandinava vol.172, fasc.4
1962.

Normal formiminoglutamic acid excretion in megaloblastic anemia in pregnancy.

Lancet I, 1963, 275.

CHANARIN, ROTHMANN, WATSON

6) Diagnostic étiologique

Folic acid deficiency in elderly patients admitted to hospital.

HURDLE et WILLIAMS

Brit. Med. J. 1966, page 202.

Anemia in occult intestinal malabsorption
WHITEHEAD, CARTER et SHARP

J. Clin. Pathology - 1965 - 18 - 110.

Anémie mégaloblastique symptomatique de malabsorption occulte .

Nouvelle revue française d'hématologie 1964.
BOUSSER (J.), ZITOUN (R.) et BOIVIN (S.)

Nouvelle revue française d'hématologie
1964, 4, 557.

Acute folic acid deficiency of unknown aetiology

W.T. COOKE, DJ FONE, EV. COX, M.J. MEYNELL and R. GADDIE

Gut. 1963, 4, 292.

Anémie pernicieuse du nourrisson (GERBASI) dans le cadre des anémies mégaloblastiques du premier âge par FONTI et RIZZONI.

Archives françaises de Pédiatrie 1967, 24, 217, 227.

Effects of Hemodialysis on Plasma levels of folic acid and vitamin B12.

WHITEHEAD, COMTY

Divisions of Haematology and Nephrology
Montreal general Hospital, Blood 1960, page 875.

Folic Acid deficiency in Haemolytic anemia.

CHANARIN, DACIE and MOLLIN

Brit. J. Haemat. 1959, 5, 245.

The effect of acute hemorrhage and hemolysis on the folate metabolism in the rat.

Brit. J. Haemat. 1966, 1, 92.

Bioptern and folic acid deficiency.

Am. I. Clin. nutritional 1967 20/6 - 613-621.

Megaloblastic anemia associated with inhibition of thymine synthesis.

Blood 1960, vol.16 - II - 1535

BRENNAN, VAITKEVICIUS

Subnormal serum folate and macrocytosis associated with anticonvulsant drug therapy.

Blood vol. 23 HI 1964

FREDERICK, KLIPSTEIN

L'anémie mégaloblastique provoquée par les médicaments antiépileptiques.

HAUSSER, BERGOZ, CROCI

Nouvelle Revue française d'hématologie, 1964.

Anomalies reversibles dues à une thérapeutique anticonvulsivante.

J. Clin. Pathology - septembre 1965,
REYNOLDS, HALLPIKE

Excrétion d'acide urocanique et de FIGLU dans les mégaloblastoses accompagnant le Kwashiorkor.

Donald ALLER et Roger G. WHITEHEAD
Blood 1965.

Acide folique dans le sang au cours des anémies nutritionnelles

RACHNILEWITZ.

Subnormal serum folate and macrocytosis associated with anticonvulsant Drug therapy.

by FREDERICK, KLIPSTEIN
Blood vol.23, n°1, 1964.

